

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**REAPROVEITAMENTO DE LODO TÊXTIL EM SOLO FLORESTAL:
ESTUDOS DOS ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS, AGRONÔMICOS E
ECOTOXICOLÓGICOS**

**Tese apresentada à Universidade Federal de Santa
Catarina como parte dos requisitos para obtenção
do Grau de “Doutor em Química”**

Edson V. Cordova da Rosa

Orientador: Prof^a. Maria Marta de Souza Sierra, Dra.
Co-orientador: Prof. Claudemir Marcos Radetski, Dr.

**FLORIANÓPOLIS - SC - BRASIL
2004**

EDSON VALMIR CORDOVA DA ROSA

REAPROVEITAMENTO DE LODO TÊXTIL EM SOLO FLORESTAL: ESTUDOS DOS
ASPECTOS FÍSICOS-QUÍMICOS, AGRONÔMICOS, E ECOTOXICOLÓGICOS

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Doutor em Química no
Programa de Pós-Graduação em Química **da Universidade Federal de Santa Catarina**

Florianópolis, 26 de outubro de 2004.

Prof. Faruk José Nome Aguilera
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Marta de Souza Sierra
Orientadora

Prof. Dr. Claudemir Marcos Radetski
Co-orientador

Prof. Dr. Marcos Rivail da Silva

Prof. Dr. Edésio Luiz Simionatto

Prof. Dr. William Gerson Matias

Prof. Dr. Carlos Henrique Lemos Soares

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

**À minha esposa
Valdinelb e minha
filha Yara Beatriz**

Agradecimentos

À professora Marta Sierra, pelo incentivo e orientação deste trabalho.

Ao professor Claudemir Marcos Radetski, pelo companherismo e co-orientação deste trabalho.

A Empresa Anglian Water Brusque Engenharia Ambiental Ltda, em especial ao Sr. Clóvis pelo apoio financeiro deste trabalho.

À Fatma, pela cessão do Laboratório de Ecotoxicologia

Ao pessoal da Biblioteca Setorial do CFM.

À dupla Jadir e Graça

À UFSC e ao Departamento de Química

Ao CNPQ, pela bolsa concedida durante a realização deste trabalho.

Aos amigos do laboratório 216: Fabricio, Carlos, Marcos Rego, Andreia, Eduardo, Denice e Thalita.

À minha família, pelo incentivo e apoio.

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	2
Capítulo I – GENERALIDADES.....	4
I – ORIGEM DO LODO.....	5
I.1 – CLASSIFICAÇÃO DOS LODOS INDUSTRIAIS.....	6
I.2– PROCESSOS DE ESTABILIZAÇÃO DO LODO.....	10
I.2.1 - DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	10
I.2.2 – COMPOSTAGEM.....	11
I.2.3 – ALCALINIZAÇÃO.....	12
I.3 – DESTINO FINAL DO LODO.....	13
I.3.1 - ATERRO INDUSTRIAL.....	13
I.3.2 - INCINERAÇÃO.....	14
I.3.3 - ESTABILIZAÇÃO/SOLIDIFICAÇÃO.....	16
I.3.4 – DISPOSIÇÃO EM SOLOS AGRÍCOLAS.....	17
I.4 – DISPOSIÇÃO DE BIOSÓLIDOS INDUSTRIAIS EM SOLOS AGRÍCOLAS.....	18
I.4.1 - MICROBIOLOGIA DO SOLO.....	19
I.4.2 - APLICAÇÃO DE BIOSÓLIDO EM SOLO FLORESTAL.....	21
I.4.3 - INVESTIGAÇÕES DO SÍTIO DE DISPOSIÇÃO E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO.....	22
I.4.4 - FATORES CONDICIONANTES NA DISPOSIÇÃO DE BIOSÓLIDOS EM SOLOS FLORESTAIS.....	24
I.4.1.1 – NITROGÊNIO.....	25
I.4.2.2 – METAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS ORGÂNICOS.....	26
I.5 – ECOTOXOLOGIA	35
I.5.1 - ASPECTOS METODOLÓGICOS DOS BIOTESTES.....	36
I.5.2 - TIPOS DOS PRINCIPAIS BIOTESTES.....	37
I.5.3 - CONSIDERAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS.....	40
I.5.4 - USO DE BATERIAS DE BIOTESTES NA AVALIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS.....	42
I.5.5 - BIOTESTES PARA AVALIAR A MISTURA SOLO-LODO.....	43
Capítulo II - MÉTODOS E MATERIAIS.....	45
II.1 – ANÁLISE QUÍMICA DA AMOSTRA BRUTA, DO LIXIVIADO E DO SOLUBILIZADO DO LODO.....	46
II.2 – ANÁLISE QUALITATIVA DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS	47
II.3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA E PEDOLÓGICA DO SOLO.....	48
II.4 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA E FERTILIZANTE DO LODO TÊXTIL.....	48
II.5 – AVALIAÇÃO DO POTÊNCIAL FERTILIZANTE DO LODO COM ESPÉCIE	

VEGETAL <i>Eucalyptus spp</i>	48
II.5.1- PARÂMETROS DETERMINADOS NESTE EXPERIMENTO (Biomassa vegetal, Biomassa vegetal seca, Proteínas e Altura).....	49
I.5.2 - ATIVIDADE MICROBIANA DAS MISTURAS SOLO/LODO.....	51
II.6 - ESTUDO DA INTERAÇÃO SOLO – LODO NA MOBILIDADE DOS METAIS	52
II.7 - ESTUDO DE ADSORÇÃO DOS METAIS NO SOLO	53
II.8 – AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO LODO	53
II.8.1 - FITOTOXICIDADE	53
II.8.2 - BIOTESTE COM ANELÍDEOS.....	55
II.8.3 - BIOTESTES DOS LIXIVIADOS DO LODO	56
II.8.3.1 - TESTE COM ALGAS.....	56
II.8.3.2 - TESTE COM DÁFNIAS.....	58
II.8.3.3 - TESTE COM PEIXES.....	58
II.8.3.4 - TESTE COM BACTÉRIAS.....	59
II. 9 - ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
 Capítulo III – RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
III.1 - CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LODO TÊXTIL	64
III.2 - AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS NO LODO E NA MISTURA DE LODO-SOLO	68
III.3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PEDOLÓGICA DO SOLO UTILIZADO	70
III.4 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DO POTENCIAL FERTILIZANTE DO LODO TÊXTIL	72
III.5 - ESTUDO DA INTERAÇÃO SOLO-LODO NA MOBILIDADE DOS METAIS E ADSORÇÃO METAL-SOLO	81
III.6 - AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA	87
III.6.1 – BIOTESTE COM ESPÉCIES VEGETAIS.....	88
III.6.2 – BIOTESTE COM ANELÍDEOS.....	93
III.6.3 – BIOTESTES COM BACTÉRIAS.....	94
III.6.4 – BIOTESTE COM ALGAS.....	95
III.6.5 – BIOTESTE COM DÁFNIAS.....	97
III.6.6 – BIOTESTE COM PEIXES.....	97
 Capítulo IV – CONCLUSÕES	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
ANEXOS	118

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Teores máximos de metais pesados admitidos no lodo a ser utilizado na agricultura, segundo a legislação de diversos países (mg/kg de matéria seca).....	31
Tabela 2: Limite da concentração de elementos potencialmente tóxicos (USEPA, 1995)*.....	32
Tabela 3: Caracterização físico-química do lodo bruto.....	64
Tabela 4: Caracterização dos extratos da lixiviação do Lodo.....	66
Tabela 5: Caracterização dos extratos da solubilização do Lodo.....	67
Tabela 6: Análise de compostos orgânicos em amostras de lodo e na compostagem de solo lodo.....	69
Tabela 7: Análise físico-química e pedológica do solo usado neste estudo.....	71
Tabela 8: Análise físico-química e biológica do lodo proveniente da ETE da Anglian. Water Brusque Engenharia Ltda.....	73
Tabela 9: Parâmetros biológicos quantificados na plântula de <i>Eucalyptus spp</i> cultivada em fase sólida expostas à diferentes misturas percentuais de lodo têxtil - Solo.....	76
Tabela 10: Teste da atividade microbiana baseada na variação da fluorescência ($\mu\text{g}/2.5\text{g}$) da DAF na mistura solo-lodo.....	77
Tabela 11: Concentrações de metais em lodo urbano da estação de Barueri SP (Mattiazzo e Pires, 2003) e no lodo têxtil da Anglian Water Brusque Engenharia Ltda.....	80
Tabela 12: Análise dos metais (Pb, Cu, Cr, Ni, Zn) no solo (61,452 kg), lodo (1,89 kg) e lixiviado do lodo.....	81
Tabela 13: Parâmetros de adsorção das isoterma de Langmuir e Freundlich do Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{6+} e Zn^{2++} em um solo argiloso.....	82
Tabela 14: Limites para qualidade da água potável, estabelecido segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), União Européia (UE) e COMANA - resolução nº 20, Art. 4º e Art. 21 (limite de lançamento de efluentes em corpos de água) e a análise do lixiviado do lodo têxtil estudado.....	85
Tabela 15: Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de <i>Cucumis sativa</i> cultivadas em fase sólida expostas à diferentes misturas de lodo - solo.....	89
Tabela 16: Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de " <i>Brassica oleracea</i> " cultivadas em fase sólida expostas à diferentes misturas de lodo – solo.	90
Tabela 17: Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de " <i>Eruca sativa</i> " cultivadas em fase sólida expostas à diferentes misturas de lodo - solo.....	91
Tabela 18: Quadro recapitulativo das CICEOs dos Testes de Fitotoxicidade.....	92
Tabela 19: Biomassa quantificada nos anelídeos expostos à diferentes misturas de lodo – solo durante 16 dias.....	93
Tabela 20: Porcentagem de inibição da luminescência das bactérias <i>Vibrio fischeri</i> expostas à diferentes diluições do lixiviado do lodo durante 30 minutos.....	94
Tabela 21: Fluorescência das algas (<i>Scenedesmus subspicatus</i>) expostas à diferentes diluições do lixiviado durante 72 horas.....	96
Tabela 22: Dáfnias expostas à diferentes diluições do lixiviado durante 48 horas.....	97
Tabela 23: Peixes expostos à diferentes diluições do lixiviado durante 24 horas.....	98
Tabela 24: Resultados do potencial tóxico dos lodo têxtil sólido e dos lixiviados obtidos com diferentes Biotestes. Os valores das CICEOs são mostrados para os vegetais (Planta mais sensível ao parâmetro analisado), anelídeos e para algas, dáfnias e peixes (lixiviado com maior efeito) enquanto que os valores das $\text{CE}_{20\%}$ são mostrados para as bactérias.....	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema resumido do sistema de tratamento de efluentes têxteis da <i>Anglian Water Brusque Engenharia Ltda</i> (Brusque S.C.).....	6
Figura 2: Fluxograma para classificação de resíduos sólidos (CETESB,1993).....	9
Figura 3: Desenho esquemático de um digestor de lodo.....	11
Figura 4: Esquema simplificado do processo químico de compostagem.....	12
Figura 5: Reações de metais no solo (M^{2+} representa um metal divalente) USEPA, 1983.....	28
Figura 6: Critério aplicado para avaliar o ecotoxicidade de resíduos sólido.....	42
Figura 7: Misturas percentuais de solo-lodo, em caixas celulósicas, sob condições ambientais.....	49
Figura 8: Etapas realizadas para as análises de proteínas	50
Figura 9: Metodologia utilizada na preparação das soluções padrões do soro de albumina bovina (SAB), as quais serviram para fazer a curva analítica para a análise de proteínas.....	51
Figura 10: Esquema experimental de colunas para avaliar a mobilidade dos metais.....	52
Figura 11: Esquema experimental de um teste de fitotoxicidade.....	54
Figura 12: Esquema experimental do teste de toxicidade com anelídeos.....	55
Figura 13: Etapas gerais dos testes realizados com algas.....	57
Figura 14: Espectrograma de CG-MS para identificação de orgânicos no lodo e lodo-solo.....	68

ACRÔNIMOS, ABREVIACÕES e SÍMBOLOS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
AFNOR - Association Française de Normalisation (França)
ANOVA - Análise de Variância
APHA - American Public Health Association
ASTM - American Society For Testing And Materials (EUA)
CE_x% - Concentração Efetiva a “x” por cento
CI_x% - Concentração Inibidora a “x” por cento
CL_x% - Concentração Letal a “x” por cento
CICEO - Concentração Inferior Com Efeito Observado
CIDASC – Centro de Desenvolvimento Agrônomo de Santa Catarina
CG – Cromatografia Gasosa
COT - Carbono Orgânico Total
CSSEO - Concentração Superior Sem Efeito Observado
CTC – Capacidade de troca catiônica
CV - Coeficiente de Variação
DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio
DIN - Deutsche Institut für Normung
DQO - Demanda Química de Oxigênio
DL_x% - Dose Letal “x” por cento
EAA - Espectrofotômetro de Absorção Atômica
ETE – Estação de tratamento de efluentes
FATMA - Fundação do Meio ambiente de Santa Catarina
ISO - International Standard Organisation
MS – Espectrofotômetro de Massa
NBR – Normas Brasileiras
OD - Oxigênio dissolvido
pH - Potencial hidrogeniônico
SAB - Soro de albumina Bovina
SGA - Sistema de Gestão Ambiental
USEPA – United States Environmental Protection Agency (EUA)
X - Média dos resultados
 σ - Desvio padrão

RESUMO

Nos processos de tratamento primário e secundário do efluente é gerado o lodo, um resíduo semi-sólido. O Lodo têxtil pode ser aplicado como suplemento no solo pela reciclagem de matéria orgânica e nutrientes. Contudo, elementos traço podem estar presentes nos lodos têxteis. Esta prática de reaproveitamento deve ser realizada de tal forma que não cause efeito adverso no meio ambiente. Assim, uma avaliação química e ecotoxicológica são fundamentais para realização desta prática. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o potencial fertilizante do lodo têxtil em solos florestais. Esta avaliação foi baseada em um estudo físico-químico do lodo e do lixiviado do lodo (metais, compostos orgânicos, pH, umidade, etc...) e ecotoxicológica do lodo e do lixiviado do lodo através dos biotestes com bactérias, algas, dáfrias, algas, peixes, fitotestes e anelídeos. Também foi realizado um estudo agrônômico do potencial fertilizante do para a espécie *Eucalyptus spp* concomitante com avaliação da atividade microbiana da mistura lodo-solo. A mobilidade e a adsorção dos metais no solo em estudo foram também avaliadas.

A classificação do lodo foi realizada segundo as normas brasileiras NBR-10004, 10005, 10006 e 10007 usada para classificação de resíduos sólidos industriais. O potencial fertilizante do lodo foi avaliado com a espécie *Eucalyptus spp*. em caixas celulósicas de 60 cm x 80 cm, as quais continham misturas de lodo-solo (solo 100%, 6-94%, 12.5-87.5 %, 25-75 % e 50-50 %). Os parâmetros analisados foram biomassa vegetal, biomassa seca, proteínas e altura. A mobilidade dos metais foi realizada em colunas de PCV contendo 60 cm de solo e 30 cm de lodo. A adsorção dos metais no solo foi determinada através das isotermas de Langmuir e Freundlich. As metodologias dos biotestes foram baseadas nos projetos de normas ISO – (International Standard Organization).

Os resultados mostraram que o lodo têxtil pertence à Classe-II Não-Perigoso. A mistura de até 50-50% de lodo-solo mostrou um efeito fertilizante para a espécie *Eucalyptus spp*. A atividade microbiana apresentou um efeito estatisticamente significativo na proporção de 25% de lodo no solo, porém com aumento da atividade microbiana em relação ao solo puro. O aumento da atividade microbiana bem como o potencial fertilizante se deve a presença de nutrientes e matéria orgânica no lodo. O solo utilizado mostrou uma boa retenção de metais, visto que o percentual de metais lixiviados foi baixa. A ordem de mobilidade dos metais foi $Zn > Ni > Cu > Pb > Cr$ em pH 4. Quanto a capacidade de adsorção dos metais no solo podemos dizer que foi alta mesmo em baixo pH. A ordem de adsorção foi $Cr > Pb > Cu > Zn$. A boa interação dos com metais neste solo se deve ao fato do solo possuir grande percentual de argila. A avaliação ecotoxicológica mostrou que a amostra de lodo mais recente apresentou maior toxicidade em relação às amostras mais antigas. Isto se deve ao fato da presença dos compostos orgânicos (i.e., os fenóis) nas amostras recentes, ao passo que nas amostras mais antigas, os compostos orgânicos foram totalmente ou parcialmente degradados. Os biotestes em suporte sólido (fitotestes e anelídeos) com lodo in natura quanto em fase líquida (bactérias, algas, dáfrias, peixes) mostraram que as proporções de misturas entre de 12 a 25% de lodo-solo ou lixiviado do lodo não apresentaram toxicidade. Embora os vários parâmetros não possuam a mesma significância ecotoxicológica

(e.g., bacteria EC20% x CICEO das plantas, anelídeos, dáfias e peixes), a escala decrescente de sensibilidade para amostra de lodo *in natura* e lixiviados foi: Algas > Bactérias > Biomassa Seca > Biomassa úmida » Germinação > Dáfias » Peixes > Anelídeos.

Como conclusão geral podemos afirmar que este trabalho contribuiu para demonstrar que: *i*) existe o potencial de reaproveitar biosólido têxtil como fertilizante em solo florestal sem gerar impacto negativo ao meio ambiente; *ii*) a necessidade/utilidade de se incluir parâmetros Ecotoxicológicos (bateria de Biotestes) na legislação ambiental para classificação de resíduos sólidos e nos estudos envolvendo problemas relacionados à poluição ambiental.

Palavras chaves: Gestão dos Resíduos Sólidos Industriais, Avaliação de Risco Ambiental, Metais/Orgânicos, Biotestes e Fertilizante.

ABSTRACT

Sludge is generated in both, primary and secondary treatment of textile effluents and this sludge can be applied as supplement in the soil for the recycling of organic matter and nutrients. However, trace elements can be present in the textile sludge. Sludge reutilization practice should be accomplished so that doesn't cause adverse effect in the environment. Thus, chemical and ecotoxicological evaluation of this practice must be carried out to ensure low environmental impact. In this context, the objective of this work was to evaluate the fertilizer potential of the textile sludge applied in forest soils. This evaluation was based on a physical-chemical and ecotoxicological study of the solid- and leachate-sludge (heavy metals, organics, pH, humidity, and bioassay with bacteria, algae, *dáfhnia*, fish, higher plants and earthworm). An agronomic study of the fertilizer potential was also accomplished for the species *Eucaliptus spp* concomitant with evaluation of the microbial activity of the sludge-soil mixture. In addition, metal mobility and the adsorption of the metals in the soil in study were also evaluated.

The classification of the sludge was realized according to the Brazilian norm NBR-10004. The fertilizer potential of the sludge was tested with the specie *Eucaliptus spp*. in celulosic boxes, which contained sludge-soil mixtures (6-94%, 12.5-87.5%, 25-75%, 50-50% and soil 100%). The analyzed parameters were vegetable biomass, dry biomass, protein contents and plant height. The mobility of the metals was carried out in PCV columns. The adsorption of the metals in the soil was determined through Langmuir and Freundlich isotherms. The methodologies of the bioassays were based on the projects of norms ISO - (International Standard Organization).

The results showed that the textile sludge belongs to the Class-II Non-dangerous. Up to 50-50% of sludge-soil mixture showed a fertilizing effect for the species *Eucaliptus spp*. The microbial activity presented an significant increase-effect in the proportion of 25% of sludge in the soil. The increase of the microbial activity as well as the fertilizing potential is due to the presence of nutrients and organic matter in the sludge-composition. The soil showed a good retention of metals, because the percentile of leached metals was low. The order of mobility of the metals was $Zn > Ni > Cu > Pb > Cr$ in pH 4. The order of adsorption was $Cr > Pb > Cu > Zn$. The good interaction (or low mobility) of the metals in this soil is due to the high clay contents in the soil. The ecotoxicológica evaluation showed that the fresh sludge samples showed high toxicidade in relation to the aged sludge samples. This is due to the presence of the organic constituents (phenols), which were totally or partially degraded in the aged sludge samples. The bioassays carried out with solid sludge (*i.e.*, higher plants and earthworms) as well as with liquid phase-leachate (*i.e.*, bacteria, algae, *dáfhnia*, fish) showed that the proportions of sludge-soil (or leachate dilution) mixtures from 12 to 25% didn't present toxicity. Although the various parameters clearly not have the same ecotoxicological significance (e.g., bacteria $CE_{20\%}$ vs CICEO of the plants, earthworms, *dáfhnia* and fish), the decreasing scale of sensibility for sample of sludge *in natura* and leached was: Algae > Bacterias > Biomass dry > humid Biomass > Germination > *Dáfhnia* > Fish > Earthworm. As general conclusion, this work contributed to demonstrate that: i) exists the

potential of reusing textile sludge as fertilizer in forest soil without generating negative impact to the environment and *ii*) the need of including ecotoxicological parameters (battery of Bioassays) for classification of solid wastes and in the studies involving problems related to the environmental pollution.

Key words: Management of the Industrial Solid Wastes, Evaluation of Environmental Risk, Metals/Organics, Bioassays and Fertilizer.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A produção de resíduos sólidos urbanos e industriais vem crescendo constantemente e faz-se sentir a necessidade de estimular e aperfeiçoar a criação de técnicas relacionadas ao reaproveitamento desses resíduos. Atualmente, o reaproveitamento de resíduos urbanos e industriais (lodos) de diversas origens tem sido investigados em estudos como: fertilizantes em solos agrícolas e florestais, agente restaurador de áreas degradadas, substrato para atividade microbiana na bioremediação de solos contaminados com diesel (compostagem), mistura em cimento, etc...

Em Santa Catarina está situado um dos maiores pólos têxteis do Brasil. As indústrias têxteis geram grandes quantidades de efluentes líquidos, os quais devem ser tratados. A forma de tratamento de efluentes mais utilizada é a microbiológica, de onde resulta o lodo, um subproduto semi-sólido.

O lodo industrial gerado na estação de tratamento é analisado e classificado quanto a sua natureza e posteriormente enviado para destinação final. Os destinos finais mais utilizados são: aterros sanitários/industriais, incineração, estabilização e, mais recentemente, disposição em terras cultiváveis. Assim, a literatura registra uma crescente disposição do lodo (principalmente lodo urbano) em terras agrícolas, porém critérios técnico-científicos ainda precisam ser melhor estudados para esta prática. Com relação aos lodos industriais, pesquisas estão sendo desenvolvidas para também reutilizar estes em terras agrícolas.

A disposição de lodo em solos agrícolas/florestais deve ser realizada de forma adequada, de tal maneira que não altere a qualidade do meio ambiente e/ou ameace a saúde pública. Para tanto, avaliações químicas/ecotoxicológicas são ferramentas importantes para assegurar a qualidade dos estudos visando utilizar o lodo como fertilizante. Em um futuro próximo estas ferramentas estarão fazendo parte das novas legislações ambientais concernentes a esta problemática ambiental.

Nesse sentido, o objetivo principal deste trabalho foi o de estudar a viabilidade de reaproveitar os lodos têxteis como fertilizante em solos florestais.

Os objetivos específicos foram:

Químicos:

- Caracterizar e classificar o lodo têxtil segundo a legislação vigente;
- Estudar a mobilidade de metais constituintes do lodo no solo argiloso em colunas de lixiviação com o intuito de caracterizar o risco ambiental associado a esta mobilidade;
- Avaliar a capacidade adsorção dos metais no solo.

Agronômicos:

- Avaliar o potencial fertilizante do lodo têxtil em solos florestais através de testes fitológicos que determinam o rendimento da biomassa vegetal e das respostas enzimáticas;
- Avaliar o impacto da aplicação de lodo na microbiologia do solo.

Ecotoxicológicos:

- Estabelecer critérios de toxicidade sobre organismos terrestres (plantas e anelídeos) para disposição de lodo têxtil no solo.
- Análise ecotoxicológica do lixiviado através de uma bateria de biotestes (bactérias, algas, dáfias e peixes).

CAPÍTULO I - GENERALIDADES

I – ORIGEM DO LODO

Atualmente, um dos principais problemas nos tratamentos de águas residuárias é a geração de lodo (quantidade e disposição final). O lodo é um produto semi-sólido que tem origem nos tratamentos primários e secundários das ETEs de Águas Residuárias (**Figura 1**). Os lodos primários são aqueles obtidos naturalmente por sedimentação natural ou flotação de parte do material sólido em suspensão, sem utilização de produtos químicos. Na classe dos lodos químicos estão aqueles cuja obtenção se dá com auxílio de produtos químicos, que podem ser realizados nos tratamentos primário ou terciário. Os lodos secundários são obtidos nos tratamentos biológicos, os quais podem ser aeróbio ou anaeróbio (BRAILE e CAVALCANTI, 1979).

A **Figura 1** mostra os processos de tratamento para efluentes têxteis da Anglian Water (Brusque SC), a qual forneceu o lodo para o presente trabalho. Inicialmente o efluente é resfriado através de uma lagoa de recepção que serve também como emergência no caso de qualquer problema na ETE. Posteriormente, o efluente passa por tanques de Equalização e homogeneização, seguindo para tanque de neutralização (abaixamento do pH através da adição de gás carbônico). A partir desta etapa, o efluente neutralizado segue diretamente para o reator biológico onde é tratado pelo sistema de lodo ativado em poço profundo. Após o sistema biológico, o efluente passa por processo de desgaseificação para retirada do nitrogênio gasoso, seguindo para os decantadores onde uma parte do lodo retorna para o reator biológico e a outra segue para adensadores. O efluente, após ser clarificado nos decantadores, segue para o tratamento físico-químico onde recebe o tratamento final para descarte. O lodo do tratamento físico-químico, juntamente com o lodo biológico, é centrifugado e enviado para aterro.

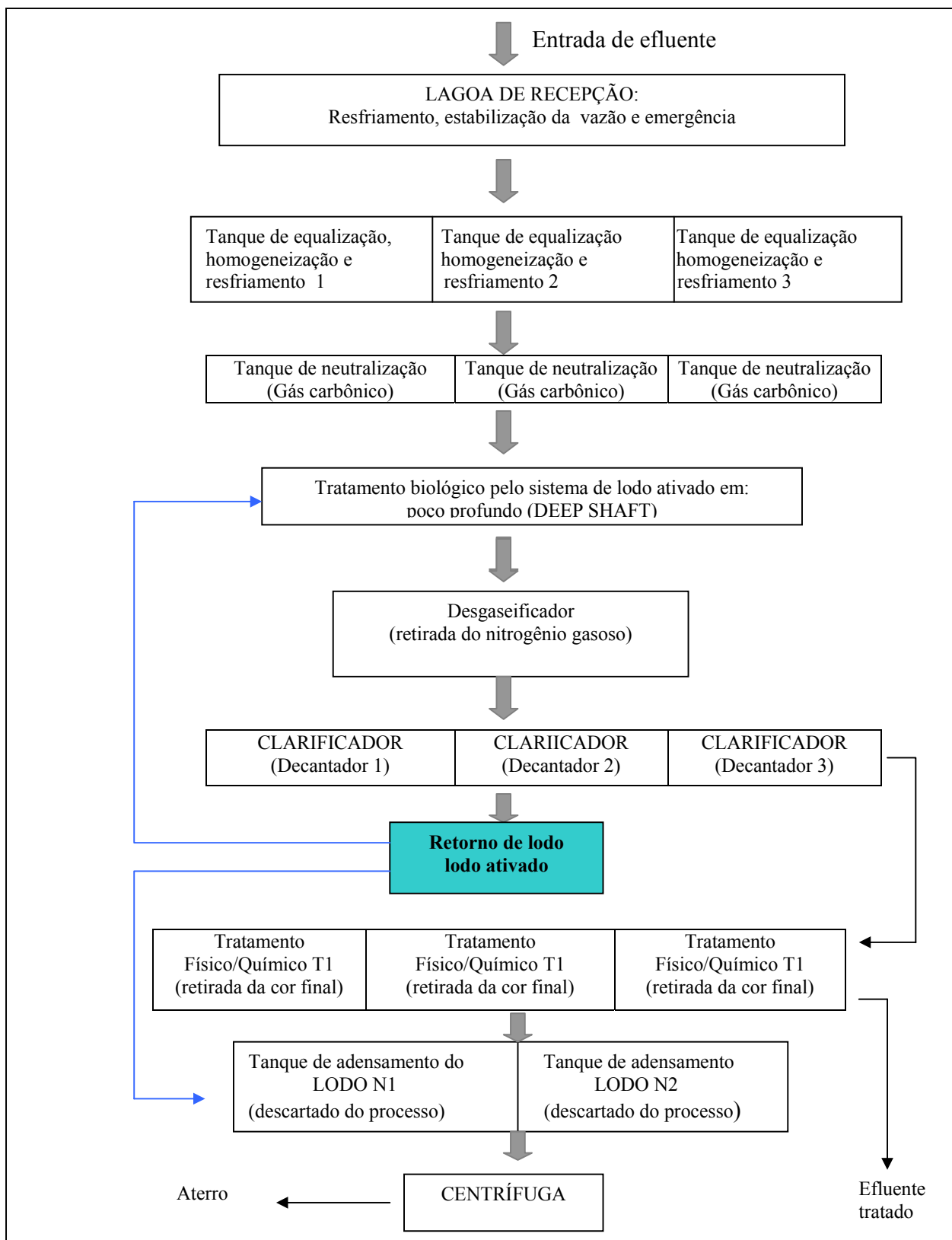


Figura 1: Esquema resumido do sistema de tratamento de efluentes têxteis da *Anglian Water Brusque Engenharia Ltda* (Brusque SC).

A quantidade de lodo gerado em estações de tratamento é um fator econômico importante no contexto de tratamento de rejeitos líquidos. A disposição final do lodo é problemático e pode representar até 60% dos custos operacionais de uma unidade de tratamento de efluentes (SANEPAR, 1999). Desta forma, muitas pesquisas objetivam a minimização da produção de lodo ao se tratar os efluentes. Para tanto, destacam-se os processos de oxidação avançada (POA), os quais além de reduzir em muito a toxicidade final dos efluentes (RADETSKI *et al.*, 2002), diminuem grandemente a formação de lodo.

I.1 – CLASSIFICAÇÃO DOS LODOS INDUSTRIAIS

O lodo proveniente de sistemas de tratamento, apesar de ter consistência semi-sólida, é considerado como um resíduo sólido, de acordo com as definições da Environmental Protection Agency (USEPA,1983), da CETESB (1993) e da NBR 10004 (ABNT,1987).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) editou um conjunto de normas para padronizar, em nível nacional, a classificação dos resíduos:

- NBR 10004 - Resíduos Sólidos - Classificação
- NBR 10005 - Lixiviação de Resíduos - Procedimento
- NBR 10006 - Solubilização de Resíduos - Procedimento
- NBR 10007 - Amostragem de Resíduos - Procedimento

A classificação proposta baseia-se fundamentalmente nas características dos resíduos, em listagens de resíduos reconhecidamente perigosos e em listagens de padrões de concentração de poluentes.

Listagem 1 – Resíduos perigosos de fonte não específica;

Listagem 2 – Resíduos perigosos de fonte específicas;

Listagem 3 – Constituintes perigosos – base para a relação dos resíduos e produtos das listagens 1 e 2;

Listagem 4 – Substâncias que conferem periculosidade aos resíduos;

Listagem 5 – Substâncias agudamente tóxicas;

Listagem 6 – Substâncias tóxicas;

Listagem 7 – Concentração – Limite máximo no extrato obtido no teste de lixiviação;

Listagem 8 – Padrões para o teste de solubilização;

Listagem 9 – Concentrações máximas de poluentes na massa bruta de resíduos utilizados pelo Ministério do Meio Ambiente da França para Classificação de Resíduos;

Listagem 10 – Concentração mínima de solventes para caracterizar o resíduo como perigoso.

De acordo com a NBR 10004, os resíduos sólidos podem ser classificados como Perigosos (Classe I), Não Inertes (Classe II) ou Inertes (Classe III). O fluxograma da **Figura 2** apresenta a metodologia a ser adotada na classificação de um resíduo. Mendes (1998) relata que o lodo proveniente da estação de tratamento de indústria têxtil é classificado como resíduo de Classe II – Não Inerte e de baixa toxidez.

Para a definição se o resíduo é considerado de Classe I, devemos verificar a composição básica para identificação da possível presença de produtos que conferem periculosidade ao resíduo.

A NBR – 10.004 estabelece, através das listagens 9 e 10, limites para concentração de alguns parâmetros na amostra bruta dos resíduos, e através da listagem 7 os limites para alguns elementos/compostos no extrato após o ensaio de lixiviação: caso a concentração de alguma substância presente no resíduo sólido esteja superior aos limites estabelecidos em alguma destas listagens, o resíduo é considerado Classe I - Perigoso. Quando o resíduo não possui nenhum elemento/substância que confira periculosidade, ou quando atende os limites estabelecidos nas listagens 7, 9, 10, e portanto não é resíduo perigoso, realiza-se a seguir a pesquisa para a definição se o mesmo é Classe II ou de Classe III. Para esta definição, a NBR estabelece limites para o extrato do ensaio de solubilização através da listagem 8. Quando o solubilizado atende aos limites desta listagem, é considerado Classe III – Inerte; caso contrário é classificado como Classe II – Não Inerte.

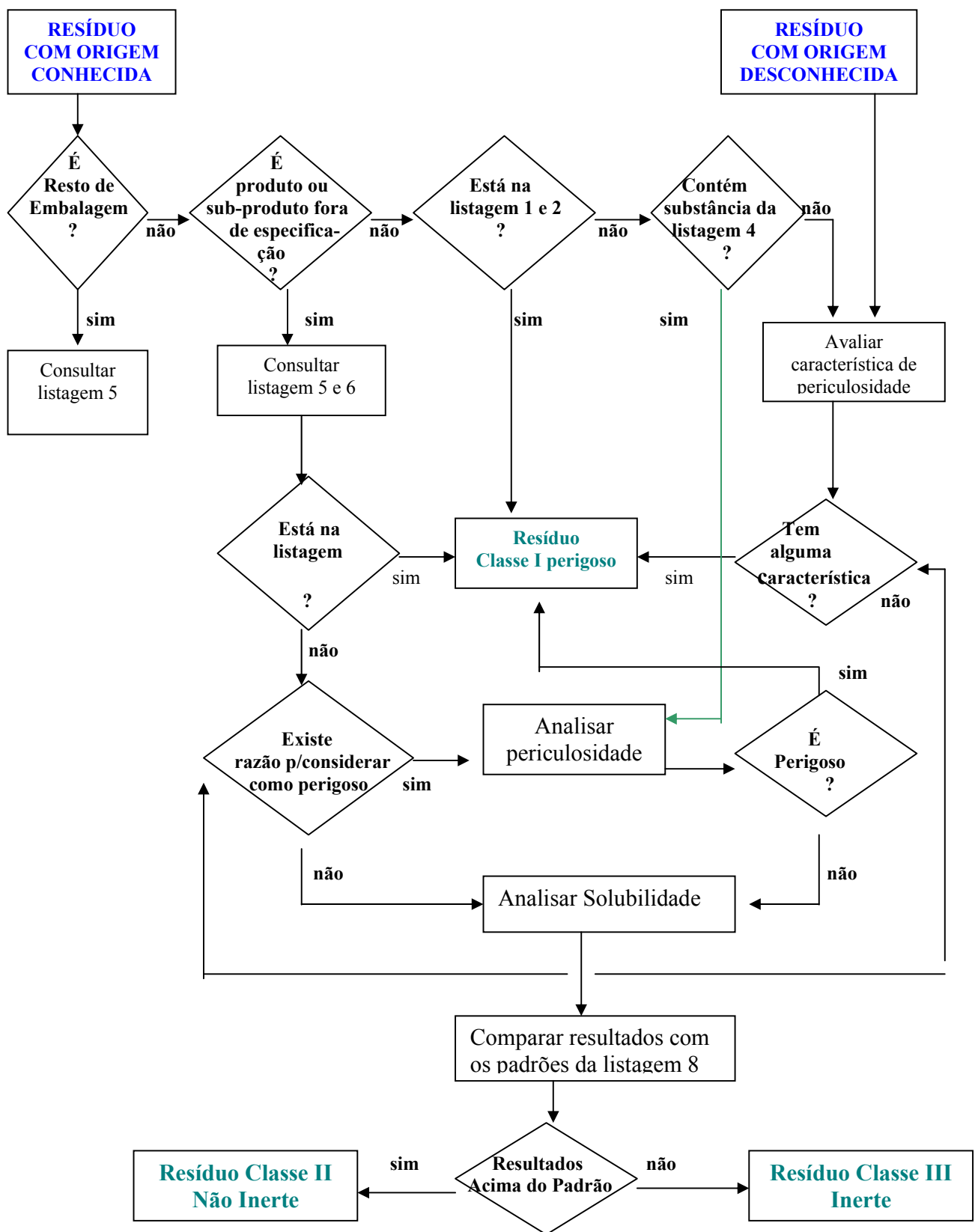


Figura 2 : Fluxograma para classificação de resíduos sólidos (CETESB,1993)

Os lodos provenientes de estações industriais variam de acordo com o tipo de atividade desenvolvida em cada grupo específico de atividade industrial. Cada indústria constitui-se num caso distinto, com despejos diferentes, e conseqüentemente, lodos com características distintas. As frações sólidas dos lodos variam com a natureza do efluente tratado, com as quantidades e tipos de aditivos utilizados e com as reações que ocorrem durante o tratamento. Assim, periodicamente as indústrias devem realizar a classificação dos seus lodos.

I.2 - PROCESSOS DE ESTABILIZAÇÃO DO LODO

Processos de estabilização são tratamentos dados ao lodo com efeito de torná-los menos reativos ou o mais inerte possível.

Os objetivos dos processos de estabilização do lodo são: eliminar os inconvenientes de odor, reduzir a presença de organismos patogênicos, reduzir ou eliminar o potencial de putrefação. Para isto, são empregados processos químicos, físicos e biológicos, que utilizam vários mecanismos de atenuação (SANEPAR, 1999; EMBRAPA, 2000). Os métodos mais utilizados de estabilização são: digestão anaeróbica, compostagem e alcalinização.

I.2.1 - DIGESTÃO ANAERÓBICA

Os digestores anaeróbios de lodo são reatores utilizados para estabilizar os lodos concentrados produzidos durante o tratamento de esgotos, bem como de alguns efluentes industriais (**Figura 3**). Os digestores de lodo foram desenvolvidos após a constatação de que a digestão do lodo aquecido em tanque separado apresentava boa eficiência na estabilização. A massa global de sólidos suspensos, tanto aquela separada em processos primários como secundários, pode sofrer uma digestão anaeróbica, que é um processo biológico realizado em ausência total de oxigênio e visa principalmente a produção de biogás (mistura de metano com gás carbônico) (ANDREOLI, 2001).

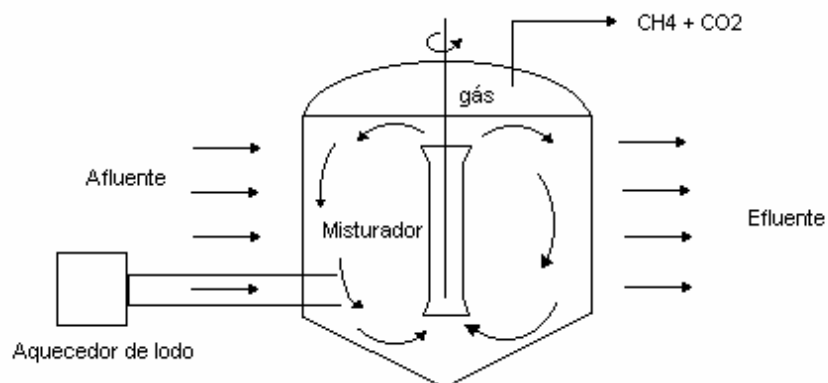


Figura 3: Desenho esquemático de um digestor de lodo

I.2.2 – COMPOSTAGEM

Compostagem é um processo de degradação aeróbia no qual o material orgânico se decompõe e/ou se transforma sob a ação de microrganismos. Esse processo produz dióxido de carbono e água, além de um produto orgânico estável, rico em compostos húmicos. Quando o material orgânico do lodo decompõe, o processo de compostagem eleva a temperatura para uma faixa de 50-70°C e a maioria dos microrganismos patogênicos são destruídos. Após a compostagem, o lodo pode ser usado como condicionador do solo, aplicado na agricultura ou horticultura ou para outra disposição final, dependendo é claro da sua classificação (SANEPAR, 1999).

Os microrganismos aeróbios, que utilizam oxigênio, alimentam-se da matéria orgânica e desenvolvem tecidos celulares através do nitrogênio, fósforo, algum carbono e outros nutrientes essenciais. A maior parte do carbono serve como fonte de energia aos microrganismos e é liberada (através da respiração) sob a forma de dióxido de carbono. O carbono orgânico pode ter funções de fonte de energia e carbono celular, logo é sempre requerido mais carbono do que nitrogênio.

O processo químico de compostagem pode ser simplificado representado pelo esquema mostrado na **Figura 4**.

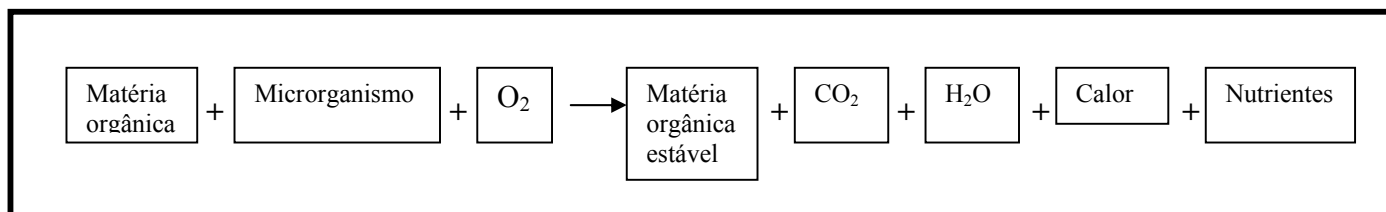


Figura 4 - Esquema simplificado do processo químico de compostagem.

À medida que o processo de compostagem se inicia, há proliferação de populações complexas de diversos grupos de microrganismos (bactérias, fungos e actinomicetos), que vão se sucedendo de acordo com as características do meio. De acordo com suas temperaturas ótimas, estes microrganismos são classificados em psicrófilos (0 - 20° C), mesófilos (15 - 43° C) e termofílicos (40 - 85° C) (EMBRAPA, 2000).

Os três tipos de sistema de compostagem utilizados são (SANEPAR, 1999):

- Pilha estática: consiste de uma grade de aeração ou tubos de exaustão sobre a qual a mistura de lodo e o agente de suporte são colocados;
- Windrow ou pilhas reviradas;
- Sistemas fechados: neste caso a compostagem ocorre dentro de um contêiner fechado.

I.2.3 – ALCALINIZAÇÃO

Desde o século passado sabe-se que a adição de produtos químicos alcalinos tem efeito estabilizante no lodo. A cal é um dos produtos alcalinos mais baratos e usados no saneamento: ela é usada para elevar o pH nos digestores, remover fósforo nos tratamentos avançados de efluentes, condicionar o lodo para o desaguamento mecânico e para estabilizar quimicamente o lodo (SANEPAR, 1999).

I.3 - DESTINO FINAL DO LODO

As principais alternativas mais utilizadas para disposição de lodo industrial podem ser (LORA, 2000; CETESB, 1993):

- aterros sanitários/industriais;
- incineração;
- estabilização/solidificação;
- disposição em solos agrícolas.

I.3.1 - ATERRO INDUSTRIAL

O aterro é uma forma de disposição de resíduos no solo que, fundamentada em critérios de engenharia e normas operacionais específicas, garante um confinamento seguro em termos de poluição ambiental e proteção à saúde pública.

A disposição indiscriminada de resíduos no solo pode causar poluição do ar, pela exalação de odores, fumaça, gases tóxicos ou material particulado; poluição das águas superficiais pelo escoamento de líquidos percolados ou carreamento de resíduos pela ação das águas de chuva e poluição do solo e das águas subterrâneas pela infiltração de líquidos percolados.

Estes problemas podem ser eliminados em um aterro pela adoção das medidas de proteção ambiental: localização adequada; elaboração de projeto criterioso; implantação de infra-estrutura de apoio; implantação de obras de controle da poluição e adoção de regras operacionais específicas.

Os aterros podem ser denominados aterros sanitários, quando projetados e implantados especialmente para a disposição de resíduos sólidos urbanos, ou aterros industriais, quando projetados e implantados especialmente para a disposição de resíduos sólidos industriais. Apresentam-se como a forma de destinação de tecnologia bastante conhecida, porém com um custo considerável para a indústria. Entretanto, deve-se sempre ter em mente que esses aterros não servem para disposição de todos os tipos de resíduos.

São passíveis de disposição em aterro os resíduos cujos poluentes neles contidos podem sofrer alguma forma de atenuação no solo, seja por processo de degradação, seja por processos de retenção (filtração, adsorção, troca iônica, etc). Os resíduos inflamáveis, reativos, oleosos, orgânicos persistentes ou que contenham líquidos livres não devem ser dispostos em aterros (CETESB, 1993; MENDES, 1998).

Os resíduos com baixo teor de umidade são os mais apropriados para se dispor em aterros industriais. Matérias com alto teor de umidade criam problemas pela formação de percolados devido à liberação da fase líquida. Lodos industriais apresentam alto teor de umidade sendo necessário secá-los antes de enviá-los ao aterro.

Os aterros industriais apresentam algumas restrições: constituem um processo extensivo que exige grande área para implantação e não resolvem necessariamente o problema de toxidez dos resíduos que continuam potencialmente perigosos, além de terem um custo alto para indústria geradora de lodo (NEIL *et al.*, 1997; MENDES, 1998).

Wang (1997) relata que o método de disposição de lodo urbano em aterro sanitário não é um método ambientalmente correto. De acordo com os princípios de conservação de recurso e proteção ao meio ambiente, esta operação poderá ser substituída por um uso benéfico.

Segundo Bebin (1997), na França foi levantado o problema da grande produção de lodo de estações de tratamento entre 1997 e 2005 e, além disso, foi proibida a disposição de produtos contendo matéria orgânica, água e elementos tóxicos lixiviáveis em aterros sanitários a partir de 2002.

I.3.2 – INCINERAÇÃO

A incineração é um método de tratamento utilizado na destruição de resíduos perigosos. É provavelmente a melhor solução para o tratamento de resíduos altamente

persistentes (organoclorados, organofosforados), tóxicos, muito inflamáveis e ainda para o lixo hospitalar (CETESB, 1993).

De uma maneira geral, as unidades de incineração variam desde instalações pequenas, projetadas e dimensionadas para um resíduo específico e operadas pelos próprios geradores, até grandes instalações de propósitos múltiplos para incinerar resíduos de diferentes fontes. No caso de materiais tóxicos e perigosos, estas instalações requerem equipamentos adicionais de controle de poluição do ar, com conseqüente demanda de maiores investimentos.

Dentre os tipos de resíduos que apresentam maior potencial no que diz respeito a adequabilidade ao processo de incineração, incluem-se: resíduos orgânicos constituídos basicamente de carbono, hidrogênio e/ ou oxigênio; resíduos que contêm carbono, hidrogênio e cloro com teor inferior a 30% em massa e/ ou oxigênio e resíduos que apresentam seu poder calorífico inferior (PCI) maior que 4.700 kcal/kg (não necessitando de combustível auxiliar para a queima) (MENDES, 1998).

As características dos resíduos sólidos e seu comportamento durante a combustão determinam como devem ser misturados, estocados e introduzidos na zona de queima. Alguns líquidos, com baixo ponto de fulgor, serão facilmente destruídos enquanto outros, incapazes de manter a combustão, deverão ser introduzidos através de uma corrente de gás quente ou aspergidos diretamente sobre chama. Neste caso, pode ocorrer um fenômeno químico chamada craqueamento, no qual novas e indesejáveis substâncias podem ser formadas. Por exemplo, se o resíduo contiver certos compostos orgânicos de cloro há risco da formação de fosgênio (COCl_2) que é um gás venenoso. Para evitar este tipo de problema é necessário manter a temperatura de combustão na faixa de 1.200 °C em 1.400 °C e o tempo de detenção entre 0,2 a 0,5 segundos ou em alguns casos de até 2 segundos (CETESB, 1993).

A incineração de resíduos contendo enxofre, flúor, cloro, bromo e iodo, resulta num efluente gasoso, em cuja composição são encontrados estes poluentes. A forma mais comum de eliminá-los é fazer com que os gases da combustão passem através de uma torre onde são lavados em contracorrente. O efluente líquido resultante é recolhido na parte inferior da torre e deve ser tratado para posterior descarte.

Uma das mais importantes desvantagens da incineração é a produção de quantidades significativas de resíduos sólidos: cinzas que voam (5% do peso úmido do rejeitos) e cinzas assentadas (acima de 30% do peso úmido) (LAPA *et al.*, 2001).

Em resumo, a incineração é uma das melhores técnicas de tratamento de resíduos, permitindo aproveitar a energia térmica produzida. Porém, altos custos (na ordem de milhões de reais) são necessários na construção de um incinerador e não soluciona integralmente o problema, havendo necessidade de se providenciar um destino final adequado para as cinzas e o lodo resultante do tratamento de gases. Com isso, torna-se um processo caro; tanto para a aquisição de equipamento, quanto à manutenção (LAPA *et al.*, 2001, BEBIM, 1997; CETESB, 1993,).

1.3.3 – ESTABILIZAÇÃO/SOLIDIFICAÇÃO (CETESB, 1993)

A estabilização consiste em um tratamento através do qual os constituintes perigosos de um resíduo são transformados e mantidos nas suas formas menos solúveis ou menos tóxicas. Tais transformações se dão por meio de reações químicas que fixam elementos ou compostos tóxicos em polímeros impermeáveis ou em cristais .

A solidificação, por sua vez, é uma forma de tratamento que gera uma massa sólida de resíduo tratado, melhorando tanto a sua integridade estrutural, quanto as suas características físicas, tornando assim mais fácil seu manuseio e transporte.

Portanto, a estabilização/solidificação tem como objetivos: melhorar as características físicas e de manuseio dos resíduos, diminuir a área superficial através da qual possa ocorrer a transferência ou perda de poluentes, limitar a solubilidade ou detoxificar quaisquer constituintes perigosos contidos no resíduo.

Os processos de estabilização/solidificação existentes são classificados como fixação inorgânica e técnicas de encapsulamento. No primeiro caso os processos baseiam-se na utilização de materiais como cimento, cal, silicatos e argilas, enquanto que no segundo caso são empregados polímeros orgânicos específicos. O material inerte pode ser utilizado na construção civil ou depositado em aterro industrial.

I.3.4 – DISPOSIÇÃO EM SOLOS AGRÍCOLAS

Baseada na emergente filosofia de reciclagem e nas leis cada vez mais rigorosas, os resíduos sólidos industriais também vêm sendo reaproveitados como fertilizante em solos agrícolas. A recente literatura reporta diversos trabalhos desta prática (ELLIOTT e DEMPSEY, 1991; PHILLIPS *et al.*, 1997; PALMER *et al.*, 1997; LOPEZ-MOSQUERA *et al.*, 2000; PUNSHON *et al.*, 2002; NAMKOONG *et al.*, 2002).

Assim, o uso de lodo proveniente de ET de esgotos urbano em terras agrícolas tem sido considerado uma alternativa viável em relação aos outros meios de disposição como aterro sanitário e incineração (McLACHLAN *et al.*, 1996). Os altos custos para disposição, construção e manutenção de incineradores e também a dificuldade para encontrar áreas para aterros sanitários, são algumas das principais razões que levam a buscar outras formas de disposição de lodos (CHU e POON, 1998; NYAMANGARA e MZEZEWA, 1999).

A reutilização de lodos urbanos em terras agrícolas começou há muitos anos atrás nos grandes centros como Estados Unidos e Europa. Por exemplo: dos 7,1 milhões de toneladas/base seca de biossólidos produzidos anualmente nos EUA, 55 % são aplicados em terras agrícolas, devendo alcançar 61,5 % até 2010. Na Europa, dos 8,9 milhões de toneladas produzidos anualmente, 40 % é aplicado em terras agrícolas e 40 % vão para aterros sanitários (USEPA, 1983; 1999).

Atualmente, muitos países estão trabalhando em novas regulamentações para utilizar lodos urbanos em terras agrícolas de uma forma segura para o meio ambiente e também para saúde pública (WONG, 1997; KROGMANN, 1997, 1998). No Brasil, é uma prática pouco expressiva. No entanto, pesquisas em número crescentes estão sendo realizadas para elaboração de Normas Técnicas regulamentando a aplicação de biossólidos em solos agrícolas (SANEPA, 1999; EMBRAPA, 2000).

Como este tema é a parte central deste trabalho, a seguir desenvolveremos esta temática de forma mais aprofundada.

I.4 – DISPOSIÇÃO DE BÍOSSÓLIDOS INDUSTRIAIS EM SOLOS AGRÍCOLAS

Para aplicação dos lodos na agricultura é necessário que essa atividade seja regulamentada, de modo que se fixem as condições e restrições para que os lodos possam ser aplicados de forma segura para a população e o meio ambiente. Para uso agrícola devem ser levados em consideração os aspectos referentes à qualidade dos lodos, principalmente quanto aos metais, compostos orgânicos, organismos patogênicos e atração de vetores. Além disso, devem também ser considerados os seguintes aspectos: condições do solo para uso do biossólido, características das áreas para aplicação do lodo, taxa de aplicação do lodo e culturas agrícolas recomendadas.

Lodos urbanos normalmente contêm altas proporções de matéria orgânica e nutriente para as plantas. Assim, eles tem sido recomendados para uso como fertilizantes em solos de baixa produtividade (USEPA, 1983). A viabilidade dessa opção é enaltecida, uma vez que o lodo contém nutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P), micronutrientes como boro (B), manganês (Mn), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e zinco (Zn), e pela sua atuação como condicionante das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (CRIPPS *et al.*, 1992). Desta forma, a quantidade de matéria orgânica presente no lodo pode melhorar a qualidade do solo, como por exemplo: aumentando a permeabilidade e o espaço dos poros de solos com textura fina, facilitando a entrada de água e ar para as raízes das plantas. Em solos arenosos, pode aumentar a capacidade de retenção de água e pode também realizar troca e adsorção de nutrientes (KHALEEL *et al.*, 1981; KORENTAJER, 1991). A matéria orgânica do lodo no solo também melhora o tamanho e estabilidade dos agregados, densidade do solo, lixiviação, biomassa e atividade microbiana, pH, CTC (capacidade de troca catiônica), imobilização de substâncias tóxicas e solubilização de nutrientes das partículas do solo e da matéria orgânica. São estas características que definem o potencial produtivo e a susceptibilidade dos solos à erosão (SASTRE *et al.*, 1996; ANDREOLI *et al.*, 1997; WALTER e CUEVAS, 1998).

Por outro lado, associadas aos benefícios da reciclagem agrícola do lodo, são introduzidas no meio-ambiente determinadas substâncias que devem ter sua influência avaliada na qualidade ambiental e, conseqüentemente, na saúde humana. A dinâmica de cada

elemento deve ser analisada frente às dosagens consideradas tóxicas e aos diferentes níveis de exposição. Os principais riscos ambientais relacionados ao uso do lodo na agricultura são representados pelo seu conteúdo de agentes patogênicos, pelo conteúdo de elementos-traço (metais e micropoluentes orgânicos) e pelos riscos de poluição das águas (superficial e subterrânea) causados pela matéria orgânica e pelo nitrogênio (HENRY, 1979; KORENTAJER, 1991; CHU e POON, 1998; KROGMANN *et al.*, 1998; RICHARDS *et al.*, 2000; NYAMANGARA e MZEZEWA, 1999; SELIVANOVSKAYA *et al.*, 2001; LOMBARDI e GARCIA, 2001).

I.4.1 - MICROBIOLOGIA DO SOLO

Os componentes biológicos dos solos, nos quais se incluem bactérias, fungos actinomicetos, algas, micro, meso e macrofauna do solo, têm significativa contribuição na reciclagem de resíduos orgânicos, na eliminação de microorganismos patogênicos, na participação dos ciclos do C, N, P, influenciando a solubilidade e mobilidade de íons inorgânicos no solo (MORENO *et al.*, 2001; SELIVANOVSKAYA *et al.*, 2001). Embora as regulamentações existentes contemplem um controle rigoroso de qualidade e quantidade dos bio sólidos a serem aplicados (em função das características físicas e químicas do solo receptor e um monitoramento das variações dessas características), ainda não existe uma maneira segura de monitorar as alterações na qualidade biológica do solo que por ventura possam ocorrer quando da disposição de bio sólidos (SANEPAR, 1999).

Talvez a maior preocupação para a utilização de bio sólidos na agricultura seja o aumento da concentração de metais tóxicos no solo. Vários metais são essenciais para as atividades microbianas, mas em concentrações excessivas podem causar toxicidade. Todos os microorganismos, procariontes e eucariontes, utilizam espécies metálicas, como V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo e W, para funções catalíticas (EMBRAPA, 2000). Alguns procariontes podem ainda empregar espécies metálicas que existam em mais de um estado de oxidação (Cr, Mn, Fe, Co, Cu, As, e Se) como doadores ou receptores de elétrons em seu metabolismo energético. Em concentrações tóxicas, metais e outros agentes potencialmente poluentes,

podem inibir atividades enzimáticas essenciais, induzir a geração de espécies ativas de oxigênio (EAO) nas células microbianas, e alterar a estrutura das comunidades microbianas (VANGRONSVELD *et al.*, 1996). Assim, variações de atividades metabólicas específicas, bem como alterações da estrutura das comunidades microbianas dos solos, poderiam ser utilizadas para quantificar impactos ambientais e a qualidade biológica do sistema. Os estudos de estresses ambientais sobre a microbiota dos solos envolvem, normalmente, a análise da mineralização de C-orgânico e N-orgânico, nitrificação, fixação biológica do nitrogênio, respiração, biomassa microbiana e atividades enzimáticas intra ou extracelulares específicas (*i.e.*, desidrogenase, fosfatase, urease, peroxidase, catalase e protease) dentre outras (MONTEIRO, 2000; SASTRE *et al.*, 1996).

Muitos métodos de avaliação microbiológica são caros, demorados e necessitam profissionais qualificados ou equipamentos sofisticados. O diacetato de fluoresceína (FDA) é degradado (hidrolisado) na presença de esterases, lipases e proteases que estão presentes em todos os tipos organismos, resultando na fluoresceína, sendo esta uma reação irreversível nos sistemas fisiológicos. É um método simples e rápido que pode ser acompanhado espectrofotometricamente. Assim, muitas pesquisas utilizaram o FDA para avaliar a atividade microbiana nos solos (LESZCZYNSKA e OLESZKIEWIC, 1995; KAPANEM e ITAVAARA, 2001; EMBRAPA, 2000).

Alterações das condições ambientais, como por exemplo o aumento da concentração de metais ou xenobióticos nos organismos, podem induzir a geração de espécies ativas de oxigênio, como o radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^\bullet) e oxigênio “singlete” (1O_2), e conseqüentemente provocar a morte celular. Em solos contaminados, peroxidases específicas podem ser induzidas na presença de concentrações tóxicas de metais, resultando na morte prematura das raízes (EMBRAPA, 2000). De maneira complementar, atividades de enzimas do solo podem ser utilizadas como indicadores de atividade microbiana e para avaliar efeitos de estresses ambientais sobre os microorganismos do solo.

Segundo Moreno *et al.* (2002), em resposta à necessidade de quantificar a influência de poluentes nos processos microbiológicos em vários ecossistemas, o conceito de dose ecológica (DE₅₀) foi desenvolvido, sendo esta a concentração de tóxico que inibe um processo microbiológico em 50%. Contudo, a redução em 50% em processo ecológico pode ser uma condição limite para um continuado funcionamento do solo. Por outro lado, baixar os valores percentuais de inibição (5%, 10% ou 25%) equivalentes à DE₅, DE₁₀ ou DE₂₅ podem ser critérios mais satisfatórios para proteger a qualidade do solo e para avaliar sensibilidade do ecossistema do solo ao stresses.

I.4.2 – APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDO EM SOLO FLORESTAL

O potencial de uso de biossólido em plantações florestais, objeto deste trabalho, particularmente com espécies de *Eucalyptus* e *Pinus*, é muito grande. Como uma das principais vantagens deste uso, os principais produtos dessas culturas não se destinam à alimentação humana ou animal, portanto, apresentam menor risco de dispersão de eventuais contaminantes (USEPA, 1983; COUILLARD e GRENIER, 1989). Contudo, a presença de contaminantes no biossólido em concentrações maiores do que as encontradas no solo natural, representam um risco de contaminação ambiental, o qual deve ser propriamente avaliado. Impactos devido à presença de metais são bastante estudados na agricultura. Porém, estudos do uso de biossólidos na agricultura não podem ser prontamente extrapolados para solos florestais, pois a hidrologia, vegetação e microorganismo em solo florestal são consideravelmente diferentes daqueles presentes em solos agrícolas (ROY e COUILLARD, 1997).

Basicamente, as regulamentações existentes para aplicação florestal de biossólidos urbanos se baseiam nas características do biossólido e do local onde será aplicado, estabelecendo maiores níveis de restrições para resíduos de maior risco (USEPA, 1995).

Com relação às características do lodo, algumas questões são analisadas criteriosamente, como por exemplo o conteúdo de elementos-traço e dos agentes patogênicos e

o grau de estabilização (relacionado a problemas de odor e atração de vetores). Os elementos-traço são de manejo restrito; uma vez existentes no lodo, sua retirada torna-se técnica e economicamente inviável. Já o conteúdo de agentes patogênicos pode ser fácil e significativamente alterado com diferentes sistemas de desinfecção. Da mesma forma, o grau de estabilização depende de como a estação de tratamento é operada (sistema de tratamento utilizado).

Segundo USEPA (1983), a aplicação de lodo em solos florestais é viável e pode ser aplicado em três situações:

- 1 – Em terras novas que não foram plantadas;
- 2 – Em plantações florestais novas (entre 3 e 10 anos de idade);
- 3 – Em plantações florestais já estabilizadas.

Com o uso de lodo em solos florestais está associado o fornecimento constante de minerais e matéria orgânica para o crescimento das árvores. Mas, critérios também devem ser assegurados quando da utilização do lodo em solos florestais. Assim, dissertaremos a seguir informações importantes que devem ser consideradas nestas situações de aplicação.

I.4.3 - INVESTIGAÇÕES E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DO SÍTIO DE DISPOSIÇÃO

O local da disposição pode ser investigado através de critérios geológicos, hidrodinâmicos, físico-químicos e sociais. Os critérios de seleção e investigação do lugar para disposição serão abordados unicamente para uso de lodo em solos florestais. Alguns dados são os mesmos para aplicação de lodo em solos agrícolas, sendo os mais importantes : localização, topografia, pH do solo, disponibilidade de nutrientes, capacidade de troca catiônica (CTC), permeabilidade e matéria orgânica (USEPA, 1983).

• Localização:

Os seguintes critérios abaixo devem ser considerados:

- Sempre levar em consideração a distância de locais de acesso público.
- O lugar para aplicação de lodo deve ser delimitado de tal maneira que evite a contaminação de águas; evitar proximidade de águas como: rios, lagos, fontes, fluxos e riachos. As distâncias deverão ser entre 90 a 450 m do nível mais alto que a água possa atingir (avaliado durante os 10 últimos anos). A proposta para manter estas distâncias é para prevenir a migração dos constituintes do lodo. Se o lugar de aplicação não for plano, a corrida dos constituintes de lodo para a água pode aumentar, por isso as distâncias devem ser aumentadas.

• Topografia

A topografia influencia o movimento de água superficial e subsuperficial, a qual pode afetar a erosão do solo e a corrida superficial do lodo aplicado. A análise topográfica pode indicar os locais mais adequados para aplicação de lodo. Para isto, muitos guias/regulamentações estipulam o máximo de inclinações permissíveis para aplicação de lodo sob várias condições, tal como: características físicas do lodo, técnicas de aplicação e taxa de aplicação.

• pH do solo

Solos florestais são tipicamente mais ácidos do que solos agrícolas; valores baixos de pH são comuns. Para aplicações na agricultura, a USEPA e muitos estados norte-americanos requerem que o pH do solo seja 6,5 ou acima. Este limite de pH é estipulado por causa da disponibilidade de metais no solo que aumenta com o decréscimo do pH. O aumento da disponibilidade de metais pesados em solos agrícolas pode causar fitotoxicidade nas plantas ou torná-las inadequadas para o consumo humano. Além disso, a migração de metais para os aquíferos pode resultar quando o pH do solo é baixo.

• Disponibilidade de nutrientes

Solos florestais podem ser deficientes em nutrientes orgânicos e fracos em quantidade de N disponível. Em alguns casos especiais, é possível fornecer nitrogênio orgânico através da aplicação de certa quantidade de lodo sem impacto adverso na água e no solo.

- **CTC**

A CTC é empregada para relacionar a adição de metal com a habilidade do solo em minimizar a absorção de metais pelas plantas. A CTC é a capacidade do solo para reter e trocar cátions. A energia da carga positiva dos cátions varia, fazendo com que um cátion substitua outro na partícula do solo, que tem carga negativa.

- **Permeabilidade**

A permeabilidade refere-se à facilidade na qual água e ar são transmitidos pelo solo. Assim, a textura do solo é um dos principais aspectos na seleção de lugar por causa das influências de permeabilidade, por exemplo: o solo de textura fina possui baixa permeabilidade.

- **Matéria orgânica**

A matéria orgânica (*i.e.*, húmus) é outro componente importante dos solos. Existem duas grandes categorias de matéria orgânica no solo, isto é, substâncias húmicas e não húmicas. Substâncias húmicas são inteiramente ou parcialmente degradados de resíduos de vegetais, animais ou micróbios. Substâncias não húmicas contam menos que 25% da matéria orgânica do solo. Para tanto, a matéria orgânica, além de ser um dos principais componente da CTC, durante o processo de mineralização, libera nutrientes para a nutrição dos vegetais. Desta forma, o manejo da matéria orgânica constitui-se em elemento de elevada importância para o sucesso das atividades agropecuárias.

I.4.4 – FATORES CONDICIONANTES NA DISPOSIÇÃO DE LODOS EM SOLOS FLORESTAIS

Os maiores constrangimentos associados à aplicação de lodo em solos florestais são devidos aos contaminantes químicos e biológicos como: nitrogênio e metais pesados, poluentes orgânicos e agentes patogênicos. Os contaminantes biológicos se restringem mais especificamente para lodos originários de esgoto sanitário. Como neste trabalho o lodo em estudo é de origem industrial, vamos nos deter mais aos constituintes químicos. A seguir,

esses constituintes serão discutidos, informando sobre os possíveis riscos e o manejo necessário para proteção da saúde pública e uma aplicação ecologicamente aceitável (USEPA, 1983; 1992; 1995).

I.4.4.1 - NITROGÊNIO

Como mencionado anteriormente, o nitrogênio é um dos principais nutrientes requeridos pelas plantas. Em muitos estudos, tem sido usado como base de cálculo para estimar a quantidade de lodo aplicada no solo agrícola. Por outro lado, a adição em excesso no solo pode resultar em uma contaminação potencial de nitrato (NO_3^-) nas águas. O Nitrato não é adsorvido pelas partículas do solo e se move prontamente para baixo percolando pelo solo (SPERLING, 1996).

O nitrogênio amoniacal (NH_4^+) está inicialmente presente no lodo, ou produzido, através do N orgânico sendo rapidamente convertido para NO_3^- . Um problema similar quanto à quantidade de nitrogênio resulta de excessivas aplicações de rejeitos de animais e fertilizantes convencionais. A taxa com que o nitrogênio orgânico é mineralizado para as formas inorgânicas é altamente variável e é dependente das propriedades físicas e químicas do lodo e do solo no qual este lodo é aplicado. As propriedades importantes do solo que influenciam na taxa de mineralização são: temperatura, conteúdo de água, pH e a relação C/N. Segundo Sperling (1996), nitrato em excesso em águas está diretamente relacionado com a saúde humana (síndrome do bebê azul) e eutrofização nos lagos e rios.

Bramryd (2000) comparou os efeitos da aplicação de lodo urbano (4 e 20% desaguado) em uma floresta de pinos silvestres de 50 anos de idade. Cada tipo de lodo era aplicado na taxa de 20 ton/ha em três replicatas. Para este autor, a maior diferença entre aplicação de lodo em uma floresta e na agricultura está na grande quantidade de matéria orgânica no chão da floresta. Esta grande quantidade de matéria orgânica tem uma alta relação do C/N e pode imobilizar uma quantidade significativa de N. Quando a taxa de C/N excede 30:1, a imobilização prevalece sobre a mineralização e se a relação C/N for menor (15:1), a mineralização é usualmente dominante. Após 11 anos, valores de pH e a relação C/N ainda eram significativos. As concentrações de NH_4^+ e NO_3^- aumentaram para valores significativos

no solo após 1 ano da aplicação de lodo 4% desaguado. Nutrientes e metais no solo e nas plantas somente eram ligeiramente afetados pelo lodo após 11 anos (*e.g.*, com aumento nos valores de N e P). Assim, conclui-se que do ponto de vista ecológico, a aplicação do lodo 20% desaguado pode ser mais benéfico do que o lodo 4% desaguado.

I.4.4.2 – METAIS PESADOS E CONTAMINANTES QUÍMICOS ORGÂNICOS

Apesar do potencial agronômico do lodo ser inquestionável, sua utilização em áreas de cultivo vegetal deve ser feita de maneira cuidadosa, de modo a não provocar danos à saúde pública e ao meio ambiente (USEPA, 1983). Os teores de metais pesados solúveis no solo são geralmente baixos. Entretanto, o emprego de fungicidas, fertilizantes minerais e esterco de animais na agricultura e descarte de resíduos urbanos, tais como lixo e lodo de esgoto e industrial no solo, podem aumentar suas concentrações causando danos à biota.

• Metais Pesados

Dentre os diferentes contaminantes dos lodos industriais, os metais pesados são o grupo com a mais extensa literatura. Muita atenção foi dada aos metais devido ao potencial deles afetarem os rendimentos dos vegetais e a qualidade do solo. Nos últimos anos, foram conduzidas inúmeras pesquisas em relação às interações metais-solo e metais-plantas. Isto pode ser atribuído, em parte, à relativa facilidade de determinações analíticas de metais no lodo, solo e tecido da planta, em contraposição ao que acontece com compostos orgânicos tóxicos devido à dificuldade envolvida com a determinação de quantidades traços.

O termo “metal pesado” é utilizado genericamente para os elementos químicos minerais metálicos que contaminam o meio ambiente e podem provocar diferentes níveis de danos à biota. Os principais elementos químicos enquadrados neste conceito são: Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, e Zn. Estes elementos são encontrados naturalmente no solo em concentrações que variam de mg a g/kg⁻¹, as quais podem ser tóxicas para diferentes

organismos vivos. Dentre eles As, Co, Cu, Se e Zn são essenciais aos organismos vivos (SANEPAR, 1999).

O comportamento químico dos metais no solo é bastante complexo e influenciado por diferentes tipos de reações, tais como adsorção/desorção, complexação, precipitação, oxidação e redução, que definem a biodisponibilidade desses elementos para as plantas, a solubilidade e lixiviação nos solos e, conseqüentemente, o seu potencial de risco para a saúde humana e para o meio ambiente (**Figura 5**) (USEPA,1983; RICHARDS *et al.*,1998, 2000). A disponibilidade de metais (quando o lodo é reutilizado no solo) para as plantas ou a suscetibilidade para lixiviar é maior quando os metais estão presentes no solo na forma de íons livres como M^{2+} . Quando ocorre adsorção de metal pela planta ou lixiviação, a solução do solo se reequilibra com a fase sólida, resultando em uma concentração relativamente constante na solução do solo. O equilíbrio da concentração será controlado pelas propriedades do solo tal como pH, pR e composição da solução (USEPA,1983). Desse modo, a captura de metais pela raiz depende de ambos os fatores solo e vegetal (*e.g.*, fonte e forma química dos elementos no solo, pH, CEC, material orgânico, espécies de plantas e tecidos vegetal e idade da planta (NAN *et al.*, 2002; BADILLA-OHLBAUM *et al.*, 2001). Em geral, a solubilidade e a disponibilidade para as plantas da maioria dos metais decrescem com o aumento do pH (USEPA, 1983).

A capacidade de retenção de metais traço no solo e a sua CTC tendem a aumentar quando a quantidade de argila, óxidos e matéria orgânica aumentar. Por causa destas relações, a CTC tem sido usada como um índice para a capacidade de retenção de metal no solo. Isto não implica que metais presentes no solo são retidos por um mecanismo de troca iônica. Metais no solo como cátions trocáveis, são disponíveis para plantas, mas poucas frações de metais adicionados no solo estão presentes como íons trocáveis.

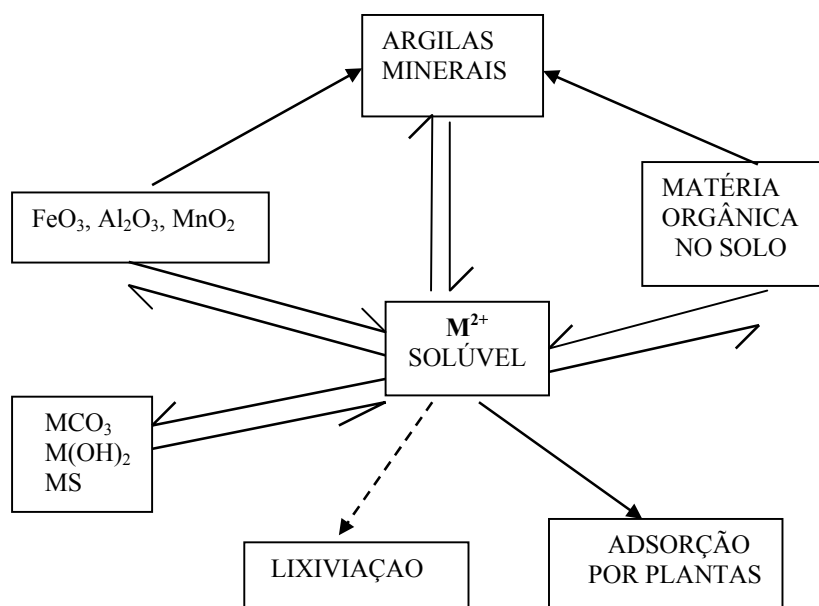


Figura 5 – Interações de metais com o solo (M^{2+} representa um metal divalente) USEPA, 1983.

Entre os metais pesados, o Cd tem recebido uma atenção especial, visto que o mesmo apresenta alta mobilidade no meio ambiente, podendo ser provavelmente o elemento limitante na aplicação de lodo no solo (ELLIOTT *et al.*, 1986; KORANTAJER, 1991). Além disso, é muito tóxico para seres humanos e animais, podendo ter um efeito tóxico nas comunidades microbiológicas, as quais exercem um importante papel na ciclagem de nutrientes e na fertilidade do solo (NAN, 2002). Com efeito, pesquisas são relatadas referentes ao comportamento e efeitos de Cd no meio ambiente (MORENO *et al.*, 2001, 2002; PROKOP *et al.*, 2003) e à emergente procura por biomarcadores sensíveis para o ecomonitoramento (ROSA *et al.*, 2003).

a) Mobilidade de metais no solo

A vegetação florestal não apresenta risco à saúde humana por acúmulo de metais por serem espécies que não participam da cadeia alimentar. O risco de contaminação devido à aplicação de lodos no solo está relacionado com a disponibilidade/mobilidade dos metais no solo, os quais podem atingir os recursos hídricos.

A mobilidade de metais em termos de lixiviação depende não somente da concentração de metais no solo, mas também das propriedades do solo e fatores ambientais (LI e SHUMAN, 1997). Contudo, uma combinação de baixo pH, redução da matéria orgânica com a profundidade, baixa capacidade de troca catiônica e o movimento de água por macroporos em solos florestais podem resultar em aumento de risco para lixiviação de metais do lodo para o solo (CHANG *et al.*, 1986).

Já é bem conhecido que a formação de complexos metálicos com compostos orgânicos, principalmente ácidos húmicos e fúlvicos, diminui a disponibilidade e toxidez de metais pesados para plantas e reduz sua mobilidade no solo (USEPA, 1983). Para tanto, os principais fatores responsáveis pelo aumento da capacidade da retenção do solo são o aumento da matéria orgânica e o aumento do pH. A constante de estabilidade dos complexos organo-metálicos aumenta com o aumento do pH (SANEPAR, 1999). Por outro lado, a mobilidade de metais pode ser significativas mesmo em pH's próximos da neutralidade ou pHs altos (RICHARDS *et al.*, 2000). Assim, a presença de matéria orgânica dissolvida (MOD) no lodo, a qual torna-se mais solúvel para estes níveis de pH, pode formar complexos solúveis e lixiviar, levando consigo os metais adsorvidos (ANTONIADIS e ALLOWAY, 2001, LI E SHUMAN, 1996). Segundo McBride (1994), o pH e a textura do solo desempenham um papel importante controlando a mobilidade de metais traço (na forma iônica livre), sendo os metais mais móveis em solos ácidos e de textura grossa.

Outros fatores como colóides orgânicos e inorgânicos, têm se mostrado importantes para acelerar a mobilidade de muitos contaminantes, principalmente, quando o nível de matéria orgânica dissolvida (MOD) é alto e os contaminantes possuem alta afinidade para colóides móveis (McCARTHY e ZACKARA, 1989; CAMOBRECO *et al.*, 1996).

Avaliando a mobilidade de metais num solo que recebeu 240 kg.ha⁻¹ de biossólidos 15 anos antes, McBride *et al.* (1997) verificaram que, apesar da parte dos metais adicionados via resíduo terem sido perdidos da camada de incorporação, os teores dos metais nas camadas mais profundas não demonstraram nenhuma evidência de movimentação. De qualquer forma,

os autores apontam como possíveis causas das perdas observadas, o caminho preferencial da água e de partículas do resíduo e/ou do solo através de rachaduras ou caminho biótico no solo.

Em estudos realizados por Richards *et al.* (2000), foram usadas colunas de solo para avaliar os efeitos dos tipos de lodo processado, em diferentes pH e textura do solo, observando a mobilidade de metais e nutrientes. Os autores usaram cinco tipos de lodo (digerido desaguado, pelletizado, alcalino estabilizado, compostado e incinerado). As colunas eram preparadas com dois tipos de solo (A – arenoso e B – argiloso) em pH's 5 e 7. Os lodos eram aplicados resultando em uma carga cumulativa correspondente 215 ton/ha para cada tipo de lodo. Também foram examinadas colunas de solo que tinham recebido uma carga de lodo em 1978. As colunas foram percoladas com chuva ácida sintética. Os resultados foram os seguintes: as concentrações de metais percolados variaram com os diferentes tipos de lodos e solos. O lodo compostado e o lodo de resíduo de incineração apresentaram baixas mobilidades de metais. No entanto, o lodo desaguado e o pelletizado tinham uma notável lixiviação de Ni, Cd e Zn no solo arenoso, especialmente para pH baixo. O lodo alcalino-estabilizado tinha uma ampla variação de metais nos percolados, incluindo Cu, Ni, B e Mo. Pouca lixiviação de P foi observada em todos os casos. O pH do lixiviado e do solo eram substancialmente menores nas colunas do solo com lodo desaguado e pelletizado e maiores para lodo alcalino-estabilizado e resíduo incinerado. Por fim, os metais presentes nos percolados estavam em concentrações baixas em relação à quantidade de metais aplicados para todo os tipos de tratamentos.

Nyamangara e Mzezewa (1999) realizaram um estudo para determinar a concentração de Zn, Cu, Ni, e Pb extraído com EDTA em um solo corrigido com lodo urbano por mais de 19 anos. Os autores concluíram que a alta concentração de metais no topo do solo, comparado com o subsolo, pode ser devido à interação de metais com a matéria orgânica em associação com um pH do solo relativamente alto. O estudo indicou que existia um risco limitado de poluição de água por lixiviação. Contudo, o potencial de poluição por corrida superficial pode ser alto devido à inclinação do solo e à alta intensidade de chuvas, principalmente, próximo dos rios.

Roy e Couillard (1998) aplicaram lodo urbano em dois tipos de solos florestais no Québec (Canadá) em taxas de 0; 200; 400 e 800 kg de nitrogênio disponível por hectare (0, 23,1, 46,3, 92,6 ton/ha em massa seca) aplicados na primavera de 1993, e taxas de 200 e 400 kg de nitrogênio disponível por hectare (19,3 e 38,6 ton/ha em massa seca) aplicados no outono de 1993. Os resultados foram os seguintes: as concentrações de Al, Fe, Mn e Zn foram de 8; 0,1; 1,0 e 0,2 mg/L, respectivamente, para os plotes com a menor taxa de lodo aplicado. As concentrações de Al e Zn excederam o critério de qualidade da água para proteção da vida aquática, e o Cd foi detectado somente para a quantidade de 400 kg/ha de N disponível ($Cd^{++} = 18 \mu\text{g/L}$). As concentrações de Cu e Pb foram menores que os limites de detecção. Este estudo também indicou que há um potencial para lixiviação de metal quando o lodo é aplicado em taxas igual ou maior do que 200 kg/ha de N disponível para solos com $\text{pH} < 4,5$.

Como consequência dos riscos dos metais, muitos países desenvolvidos realizaram estudos para auxiliar a determinação dos limites de aplicação para diferentes elementos presentes no lodo. A **Tabela 1** apresenta os limites tolerados pelas legislações de alguns países para determinados elementos.

Tabela 1 - Teores máximos de metais pesados admitidos no lodo a ser utilizado na agricultura, segundo a legislação de diversos países (mg/kg de matéria seca).

Metal Pesado	Dinam.	Suécia	Alem.	Suíça	Holan.	Escóc.	França	Itália	Países Baixo	Bélgica	EUA
As	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75
Cd	0,8	15	10	30	10	20	20	20	1,25	12	85
Cr	100	1000	900	1000	500	2000	1000		75	500	3000
Cu	1000	3000	800	1000	600	1500	1000	1000	75	750	4300
Pb	120	300	900	1000	500	1500	800	750	100	600	840
Hg	0,8	8	8	10	-	-	10	10	0,75	10	57
Mo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75
Ni	30	500	200	200	100	25	200	300	30	100	420
Se	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	100
Zn	4000	10000	2500	3000	2000	2500	3000	2500	300	2500	7500
Ag	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Co	-	50	-	100	-	-	-	-	-	-	-
Mn	-	-	-	500	-	-	-	-	-	-	-

(-) valor não determinado;
fonte: MARCELO, 1998.

É interessante observar na **Tabela 1** as diferenças que norteiam as legislações americanas e européias. Estas diferenças podem ser explicadas através de diversos fatores, entre eles: variações na composição química dos lodos entre os países, diferenças edafoclimáticas, diferentes formas de agricultura e diferenças culturais e históricas.

Da mesma forma, existem normas que limitam a carga anual (e a carga total) permitida para diferentes elementos em um determinado local. Um trabalho mais recente pode ser visto nas pesquisas americanas, onde padronizaram normas para a disposição final de lodo (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Limite da concentração de elementos potencialmente tóxicos (USEPA, 1995)*

Elementos potencialmente tóxicos	Concentração máxima (mg/kg)	Biossólido de alta qualidade (mg/kg)	Carga cumulativa (kg/ha)	Carga anual (kg/ha.ano)
Arsênio	75	41	41	2,0
Cádmio	85	39	39	1,9
Cromo	3000	1200	1200	150
Cobre	4300	1500	1500	75
Chumbo	840	300	300	15
Mercúrio	57	17	17	0,85
Molibdênio	75	18	18	0,90
Níquel	420	420	420	21
Selênio	100	0	36	5,0
Zinco	7500	2800	2800	140

* Valores em massa seca.

Com relação ao Brasil, ainda não existe uma legislação específica para a disposição final de lodo de esgoto/indústria na agricultura, em florestas e em áreas degradadas. Porém, existe uma série de leis e normas que devem ser respeitadas. É o caso das Normas Brasileiras Registradas (NBR 10.004, 10.005, 10.006, 10.007) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Elas são responsáveis pela classificação dos resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública e já foram comentadas anteriormente. Neste contexto, também destacam-se as normas dos valores orientadores dos poluentes para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo (CETESB, 2001).

O estabelecimento de concentrações limites de metais no solo é uma questão que exige dados sobre a mobilidade dos cátions metálicos nos solos, bem como dados sobre a capacidade de adsorção do solo. Segundo Martinez *et al.* (2000), a mobilidade dos metais está inversamente relacionada com a adsorção específica (*i.e.* ligações covalentes ou semi-covalentes), adsorção não específica (*i.e.*, adsorção eletrostática nos sítios de troca) e com a precipitação.

O comportamento adsorptivo dos metais é determinado pelas isotermas de adsorção. Os modelos de isotermas partem de diferentes pressupostos, adequando-se a determinadas situações. Desta forma, é importante conhecer os diferentes modelos e suas limitações (ARAÚJO e SOBRINHO, 2000). O modelo baseado em dados de adsorção para soluções muito diluídas é a equação de Freundlich, *i.e.*, este modelo não é aplicável quando a adsorção do soluto alcança sua saturação em altas concentrações. O mesmo modelo foi utilizado primeiramente por Russel e Prescott em 1916, representado abaixo:

$$Q = B C_e^{1/n}$$

Onde, **Q** é a quantidade de soluto adsorvido (mg. kg⁻¹); **B** e **n** são constantes empíricas; **C_e** é a concentração de equilíbrio (mg. L⁻¹).

As isotermas de Langmuir são utilizadas quando a superfície do adsorvente apresenta um número finito de sítios idênticos, formando uma monocamada de adsorção. Sua fórmula mais comum é:

$$Q = K \frac{C_m \cdot [C_e]}{1 + K [C_e]}$$

Onde, **Q** é a quantidade de soluto adsorvido (mg. kg⁻¹); **K** é a constante relacionada à energia de ligação adsorbato-adsorvente; **C_m** é a quantidade máxima de adsorbato que pode ser adsorvida (mg.kg⁻¹) e **C_e** é a concentração de equilíbrio (mg. L⁻¹).

Em estudos recentes, as isothermas de Freundlich e Langmuir foram utilizadas na avaliação da adsorção de Pb, Cu, Zn (ARAÚJO e SOBRINHO, 2000; REDDING *et al.*, 2002) e do Cu (ALLEONI e SILVEIRA, 2002).

Observa-se que os valores das concentrações limites determinados através de estudos de mobilidade e adsorção dos metais pesados no perfil do solo, bem como estudos do potencial fertilizante e da toxicidade do lodo, variam de um local para outro e só podem ser determinados pela experimentação científica, demonstrando, assim, a necessidade de mais pesquisas na área.

• Contaminantes químicos orgânicos

Poucos são os países que colocam restrições baseadas nos contaminantes químicos orgânicos para a utilização do lodo de esgoto na agricultura. Isto ocorre porque o assunto não foi ainda bem estudado. Existem muitas dúvidas à respeito do que vem a ser um contaminante químico orgânico, quais as vias e limites para a contaminação do homem e quais as conseqüências para a saúde humana. Este tópico fica como um alerta para a necessidade de se desenvolver estudos nessa área para as condições brasileiras.

Por outro lado, alguns tipos de contaminantes são bem conhecidos, como os organoclorados (*e.g.*, PCBs, 2,4-DCP) por serem tóxicos e muito estáveis, ou seja, são muito resistentes à degradação biológica e química nas condições ambientais. Esses contaminantes podem ser também introduzidos no solo através do uso de pesticidas e deposição atmosférica (DURING *et al.*, 2002).

Hinkel *et al.* (1996) investigaram duas classes de organoclorados [dibenzo-*p*-dioxinas e dibenzofuranos (PCDD/F)] em lodos urbanos e constataram que a indústria têxtil era a fonte mais abundante de compostos precursores para formação de dioxinas devido ao uso de pentaclorofenol (PCP) no processo têxtil. Com efeito, medidas foram tomadas para minimização de poluentes clorados na indústria têxtil, proibindo o uso do pentaclorofenol.

Esta política emergente de minimização de poluentes vem ao encontro dos argumentos sugeridos pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA), que limitou a concentração de policlorados bifenílicos (PCBs) no lodo para uso agrícola em 10 mg/kg, sendo que as restrições relacionadas aos organoclorados poderão tornar-se menos comuns no futuro, pois esses produtos não serão mais fabricados (USEPA,1983).

A determinação dos limites dos metais e compostos orgânicos no solo é atualmente tema de muitas pesquisas. No sentido de estabelecer os limites seguros no solo, estes podem ser baseados em estudos como capacidade de adsorção, mobilidade, bioacumulação, biodisponibilidade, biodegradação e toxicidade. Através destes estudos, podemos compreender melhor o comportamento dos metais e compostos orgânicos no solo. Recentemente, foi elaborada uma diretriz (CETESB, 2001), a qual estabelece limites de poluentes no solo e águas subterrâneas para três tipos de situações; valores orientadores, valores de alerta e valores para intervenção (remediação). Assim, esta diretriz pode servir como uma base de referência nos estudos de contaminantes no solo.

I.5 – ECOTOXICOLOGIA

A avaliação do grau de impacto causado por rejeitos industriais se faz por duas abordagens, as quais podem e devem ser integradas:

- i) análise química;
- ii) utilização de biotestes.

Um bioteste consiste em colocar um organismo vivo em contato com uma substância química (ou mistura complexa) com o intuito de observar um efeito tóxico. A toxicidade será evidenciada pela observação da morte ou por uma modificação no crescimento ou na fisiologia do organismo.

Em Ecotoxicologia, os biotestes são utilizados para mostrar os níveis (concentrações) de produtos químicos ou misturas complexas que não produzem (ou que produzem) efeitos adversos nas populações, comunidades ou ecossistemas.

No estudo de uma mistura complexa (*e.g.*, lodo têxtil) vários tipos de biotestes podem ser utilizados para evidenciar uma possível toxicidade. Entre estes testes podemos citar aqueles realizados com macrófitas, com microcrustáceos, com peixes, com moluscos, com bactérias, com algas, com nematóides, com protozoários e com vegetais.

O objetivo dos biotestes é monitorar e/ou prever os efeitos tóxicos de elementos simples, compostos ou misturas em termos de saúde dos organismos, tanto ao nível individual ou em níveis de populações, comunidades e ecossistemas.

Em termos práticos, existem várias abordagens com relação à aplicação dos biotestes:

a) abordagem regulamentadora:

- classificação do potencial tóxico das substâncias químicas;
- fixação de limites de rejeitos no ambiente.

b) abordagem preditiva:

- previsão das consequências ambientais devidas aos rejeitos;
- proteção das espécies consideradas de maior interesse;
- proteção da estrutura e do funcionamento dos ecossistemas.

c) abordagem avaliativa:

- eficiência de um sistema de despoluição;
- controle da qualidade ambiental pré e pós-rejeição de poluentes;
- ecotoxicomonitoramento.

1.5.1 - ASPECTOS METODOLÓGICOS DOS BIOTESTES

Existe uma variação muito grande dos resultados quando o mesmo tipo de Bioteste é realizado com protocolos diferentes. Para que isto não se torne um problema de difícil equacionamento, houve um esforço internacional no desenvolvimento de normas padronizadas

para possibilitar uma maior homogeneidade e conseqüentemente, uma melhor comparação dos resultados obtidos em diferentes laboratórios. O Brasil (via ABNT), bem como todos os países que participam do comércio internacional, adotou a utilização destas normas que foram elaboradas pela ISO (International Standard Organization). Assim, uma série de normas (ISO 14000) já vigoram com o objetivo de avaliar (e diminuir) os impactos ambientais causados pelos rejeitos industriais que resultam da fabricação dos produtos industrializados.

I.5.2 - PRINCIPAIS BIOTESTES

Os testes mais utilizados para avaliar o potencial tóxico de rejeitos abrangem organismos pertencentes aos diferentes níveis tróficos de um ecossistema (THOMAS *et al.*, 1986, BLAISE *et al.*, 1987). Por exemplo, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 1985b) também recomenda a utilização de várias espécies pertencentes à diferentes níveis tróficos quando da realização de Biotestes. Isto porque a toxicidade de um mesmo tipo de rejeito pode variar segundo o organismo testado.

Os Biotestes mais utilizados que aparecem na literatura científica são:

- Teste com bactéria marinha (*Photobacterium phosphoreum* e *Vibrio fischeri*)

Este teste consiste a medir a luminescência da bactéria na ausência e na presença do efluente a ser testado. A toxicidade do efluente se traduzirá por uma diminuição da luminescência da bactéria (BULICH, 1979; ISO, 1993a). Embora estas bactérias marinhas não sejam representativas do meio aquático doce, este tipo de teste apresenta uma boa relação custo/eficiência, fornecendo uma informação rápida sobre a toxicidade do efluente, principalmente quando este contiver metais (VASSEUR *et al.*, 1984).

- Teste com algas

As algas são consideradas como a base das cadeias tróficas aquáticas e a estabilidade da biomassa dos níveis superiores destas cadeias frequentemente dependem do equilíbrio fitoplanctônico (CHRISTENSEN e SCHERFIG, 1979). A fitotoxicidade (redução da

produtividade primária) é considerada como um dos efeitos ecotoxicológicos dos mais nefastos (NEUHOLD e RUGGERIO, 1976).

Uma população de algas em fase exponencial de crescimento é exposta a uma série de diluições de um efluente sob condições definidas. Trata-se de um teste de inibição do crescimento da população algal; após um período definido, o crescimento das populações expostas às diversas diluições é comparado ao crescimento das algas não expostas ao efluente (ISO, 1990). Este teste faz parte de uma bateria constituída de 3 biotestes reconhecidos e utilizados pela USEPA (1994); é o tipo de ensaio crônico mais breve de que se dispõe com relação aos outros dois testes da bateria.

- Teste com microcrustáceos

Este tipo de ensaio tem por objetivo medir as concentrações tóxicas de um efluente utilizando a espécie *Daphnia magna* ou *Ceriodaphnia dubia* (ISO, 1994; USEPA, 1994). São organismos que filtram a água para se alimentar; ao nível da cadeia trófica, eles são considerados consumidores primários. Se alimentam essencialmente de algas e de organismos unicelulares (bactérias, protozoários), bem como de matéria orgânica em suspensão.

- Teste com peixes

Os testes crônicos consistem em acompanhar o desenvolvimento embrionário e larvário, bem como o estado juvenil dos peixes expostos ou não aos tóxicos (USEPA, 1994). Os peixes são igualmente utilizados para estabelecer a toxicidade aguda das substâncias e de efluentes (ISO, 1993b).

- Teste com vegetais (fitotoxicidade e genotoxicidade)

As plantas são componentes essenciais para os ecossistemas aquáticos e terrestres. Além disso, as plantas servem como abrigo e suporte para os ciclos de vida dos insetos, peixes, pássaros, anfíbios e mamíferos.

O uso de plantas em testes de toxicidade apresenta algumas vantagens sobre os outros tipos de testes:

- pode-se avaliar a toxicidade de amostras de ar, líquidos (*e.g.*, efluentes, lixiviados), solos e sedimentos;

- pode-se avaliar vários critérios de efeitos (*e.g.*, biomassa, germinação, conteúdo em clorofila, trocas gasosas, atividades enzimáticas, problemas genéticos, etc...);
- dispondo das sementes, pode-se iniciar um teste a qualquer momento;
- o custo de manutenção e realização dos testes é baixo;
- pode-se aplicar o teste *in locu*;
- os protocolos dos testes de fitotoxicidade são relativamente simples de serem executados.

Porém, a principal vantagem é que neste tipo de teste, o efluente pode ser usado *in natura*, sem necessidade de corrigir o pH ou eliminar a matéria em suspensão, o que deixa a amostra a ser testada íntegra. Duas revisões bibliográficas sobre a utilização dos Biotestes com vegetais foram publicadas por WANG e FREEMARK (1995) e LEWIS (1995).

- **Testes bioquímicos (moléculas biomarcadoras)**

O estudo das respostas bioquímicas dos organismos (*e.g.*, proteínas, enzimas e metabólitos) frente aos contaminantes é uma área de interesse crescente no campo da Ecotoxicologia (DI GIULIO *et al.*, 1989; STEGEMAN *et al.*, 1992). As razões deste interesse repousam: *i*) na necessidade de se obter dados bioquímicos de base com organismos intoxicados ou não; *ii*) de encontrar moléculas biomarcadoras altamente sensíveis que respondam a doses de tóxicos extremamente baixas e que permitam um monitoramento simples e confiável quanto aos resultados obtidos.

Com relação aos vegetais, um grande número de moléculas bioquímicas estão sendo usadas para melhor entender as interações tóxico-contaminantes em estudos ambientais, principalmente enzimas (VAN ASSCHE *et al.*, 1988).

- **Teste com anelídeos**

Muitos estudos reportam que anelídeos (minhocas da terra) tem sido usados como indicadores de qualidade de solos contaminados (teste de sobrevivência e reprodução (DORN *et al.*, 1998; SATERBAK *et al.*, 1999). Desta forma, a minhoca é considerada um organismo importante para uma avaliação de risco de solos contaminados, pois onde há presença deste, há o crescimento de vegetais. Demonstrações deste princípio tem sido feitos em vários ecossistemas com várias espécies de minhocas da terra (CALLAHAM *et al.*, 2002). A grande tolerância de algumas espécies (*e.g.*, *Eisenia foetida*) para a temperatura, mistura e pH do solo,

são atributos para utilizá-las em ecotoxicologia bem como em vermino-compostagem. De uma forma geral, minhocas da terra exercem um importante papel no funcionamento saudável do solo, elas são bons organismos para avaliar os níveis de contaminantes nos solos e a eficiência das técnicas para remediação de solos contaminados (SATERBAK *et al.*, 2000; DAVIES *et al.*, 2002).

I.5.3 – CONSIDERAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

O interesse no manejo de resíduos sólidos tem sido amplamente discutido na literatura (QUEVAUVILLER, 1998, LAPA *et al.*, 2002). A clara necessidade de normas padronizadas (tal como as preparadas pela ISO), medidas *in-situ* e tipos de análises para avaliação de resíduos sólidos são evidenciadas. Assim, a necessidade de desenvolver (e validar) métodos para controle dos processos de tratamento e caracterização dos resíduos finais são temas também debatidos (BERNARD *et al.*, 1996; JUVONEM *et al.*, 2000). Com efeito, métodos rápidos de análises químicas para estudos de campo (*e.g.*, colorimétricos e espectrofotométricos) podem ser adaptados para resíduos, juntamente com o uso de testes ecotoxicológicos (bioensaios). Estas metodologias são ferramentas importantes para uma avaliação de risco. Certamente o conhecimento de possíveis contaminantes e avaliação de risco ambiental são importantes para ajudar nas tomadas de decisões, visando desta forma a possibilidade de reutilização dos lodos. Outra alternativa, segundo os pesquisadores, é determinar “o *estresse das enzimas*” as quais são muito sensíveis à presença de contaminantes (QUEVAUVILLER, 1998).

A avaliação ecotoxicológica de resíduos é uma regulamentação exigida na Europa (EEC, 1991). O uso de bioensaios para avaliar a toxicidade de resíduos é fortemente recomendada para se ter uma estimativa mais real da toxicidade ambiental. De fato, respostas biológicas para misturas complexas integram vários fatores tais como pH, solubilidade, antagonismo ou sinergismo e biodisponibilidade de substâncias. Ao contrário, é reconhecido

que somente as análises químicas não são suficientes para avaliar a toxicidade ambiental de rejeitos (FERRARI *et al.*, 1999).

Como visto anteriormente, todo estudo ecotoxicológico compreende uma bateria de testes que utilizam diferentes organismos representantes dos diferentes níveis tróficos dos ecossistemas. A importância dos biotestes pode ser depreendida quando se analisa o número de testes normalizados ou em vias de normalização nas diferentes instituições responsáveis pela gestão ambiental. Podemos citar como exemplos as normas desenvolvidas pela ISO - International Standard Organization (1990,1993 a,b,c e 1994), ASTM - American Society for Testing And Materials (1994), USEPA - United States Environmental Protection Agency (1985a, 1994) e a AFNOR - Association Française de Normalisation (1982, 1986), DEUSTSCHE NORM- German Stander Methods for the Examination of Water, Wastewater and Sludge - DIN (1989).

Na literatura especializada, a maioria das pesquisas com biotestes é para avaliar o impacto ambiental de rejeitos líquidos e monitoramento de recursos hídricos (USEPA,1985a ROSA *et al.*, 1999; RADETSKI *et al.* 2001; SANTOS *et al.*, 2002; SPONZA, 2003; ROSA *et al.*, 2003). Por outro lado, poucas são as pesquisas realizadas para avaliação ecotoxicológica de resíduos sólidos (FERRARI *et. al.*, 1999; KAPANEN e ETAVAARA, 2001).

A aplicação dos biotestes nas pesquisas com resíduos sólidos é ainda nova e muitos procedimentos e métodos estão sob desenvolvimento e validação. Os métodos nos quais se empregam organismos aquáticos (bactéria luminescente, *Daphnia*, inibição ou crescimento de algas, etc.) ou organismos do solo (crescimento de plantas, germinação de sementes e invertebrados do solo) podem diretamente ou com pequenas modificações , serem aplicados para estudos de lixiviados, percolados e resíduo sólidos (LAMBOLEZ *et al.*, 1994; CLÉMENT *et al.*, 1996; FERNANDEZ-SEMPERE *et al.*, 1997; FERRARI *et al.*, 1999; LAPA *et. al.*, 2002 a, 2002b).

Uma análise importante desta questão é realizada no trabalho relatado por Lapa *et al.* (2002b), na qual se avaliaram vários resíduos de um incinerador municipal. Neste trabalho,

foram consideradas análises químicas e ecotoxicológicas dos lixiviados, baseando-se no esquema da **Figura 6**. Quando os autores compararam os resultados das análises químicas dos resíduos com os limites propostos pela legislação para valorização de rejeitos da França, os resíduos B1, B2, B3 e D1 poderiam ser reutilizados (calçadas, estradas, etc.) porque estavam abaixo dos limites propostos. Contudo, quando essas informações foram comparadas com os resultados do Sistema de Critérios de Toxicidade, as amostras B2, B3 e D1 apresentaram ecotoxicidade maior do que B1. Assim, conclusões diferentes foram obtidas quando foram usados critérios químicos e ecotoxicológicos. Por fim, além da urgente necessidade para padronização de normas para avaliação de risco e critérios de valorização de resíduos é importante que as normas incluam ambas as análises, químicas e ecotoxicológicas.

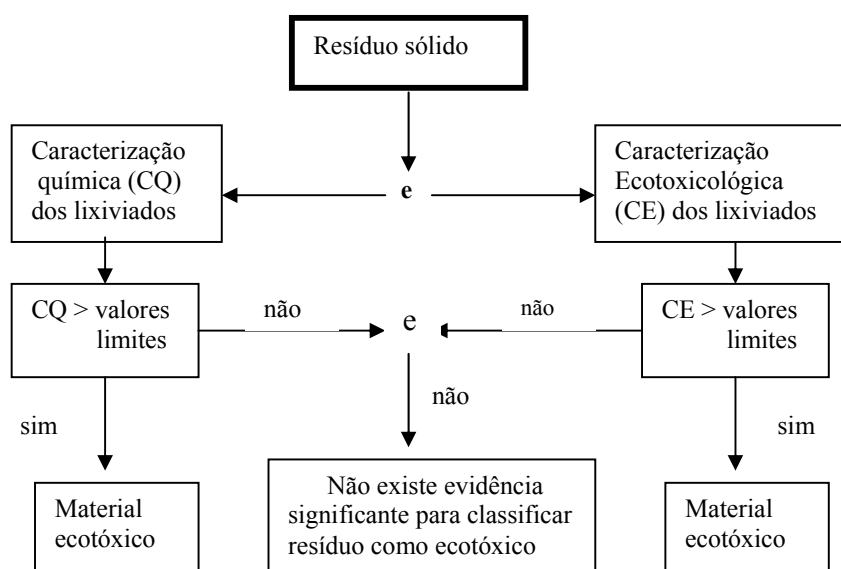


Figura 6: Critério aplicado para avaliar o ecotoxicidade de resíduos sólidos
(Lapa *et al.*, 2002b)

I.5.4 – USO DE BATERIAS DE BIOTESTES NA AVALIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

Avaliação ecotoxicológica do solo tem sido aplicada para avaliação de risco ambiental de solos contaminados e para avaliar a eficiência dos métodos de descontaminação e detoxificação (PASCHKE e REDENTE, 2002, BEDELL *et al.*, 2003). Ainda são poucos os

biotestes padronizados para avaliação de solos, no entanto, uma combinação de testes com organismos terrestres e aquáticos são utilizados para que a avaliação de risco seja mais representativa (SCHULTZ *et al.*, 2002). Recentes trabalhos avaliam e propõem protocolos para plantas (*e.g.*, teste germinação) a fim de usá-las para avaliação ecotoxicológica de solos (GOENG *et al.*, 2001).

Assim, Saterbak *et al.* (2000) usaram parâmetros físico-químicos e ensaios ecotoxicológicos para avaliar a eficiência de um método de biorremediação que durou de 11 – 13 meses em oito tipos de solos contaminados por hidrocarbonetos. A determinação dos efeitos de hidrocarbonetos nos organismos presentes no solo é importante para avaliar o risco ecológico no ecossistema terrestre. Os testes de ecotoxicidade incluíram ensaios com anelídeos (14 dias, sobrevivência e reprodução), germinação das sementes e comprimento da raiz usando milho, alface, mostarda e trigo. Durante a bioremediação, os hidrocarbonetos extraídos com freon diminuíram de 26 a 84%, dependendo do solo. Na maioria dos solos biorremediados, a sobrevivência das minhocas foi quase de 100%. A reprodução das minhocas aumentou ou permaneceu igual àquela verificada nos solos-controle. As germinações de alface e mostarda aumentaram, exceto em dois solos com altas concentrações de sais. As germinações de milho e trigo eram altas na maioria dos solos (tratados ou não). Os comprimentos das raízes variaram entre os tipos de sementes e solos, aumentando em alguns solos e permaneceram inalteradas em outros. De uma maneira geral, as respostas dos organismos nos solos contaminados com hidrocarbonetos melhoraram com a biorremediação.

1.5.5 – BIOTESTES PARA AVALIAR A MISTURA SOLO-LODO

A aplicação de lodo no solo possui aspectos positivos e/ou negativos, como visto anteriormente. Percebe-se através da literatura que cada vez mais busca-se segurança e eficácia nesta prática. Paralelamente, junto com os conhecimentos já existentes, os biotestes podem contribuir na avaliação de risco ambiental, dando maior segurança no reaproveitamento do lodo.

Efeitos tóxicos em plantações devidos à aplicação de lodo (urbano) têm sido extensivamente estudados, mas o custo e a quantidade de amostras exigidas tornam os estudos de campo pouco apropriados para avaliar um tratamento quanto este está sob desenvolvimento. Assim, os biotestes que requerem pequenas quantidades de amostras em comparação aos estudos de campo, são as melhores ferramentas para avaliar o estágio inicial de uma nova tecnologia de tratamento (CARLSON e MORRISSON, 1992; PUN *et al.*, 1995; CHAUDRI *et al.*, 1999).

Assim, Renoux *et al.* (2001) usaram uma bateria de biotestes com organismos terrestres e aquáticos para avaliar a eficiência da tecnologia de biolixiviação no lodo para reduzir a quantidade de metais e, conseqüentemente, sua toxicidade. Misturas lodo-solo simulando a aplicação de lodo no solo foram testadas por meio de plantas terrestres (cevada-germinação 5 dias e crescimento 14 dias, alface-germinação 5 dias) e minhocas (mortalidade 14 dias). Os biotestes em fase líquida foram: Microtox (*Vibrio fischeri* 15 min), alface (elongação da raiz 5 dias), *Daphnia magna* (mortalidade 48 horas) e SOS Cromoteste (*Escherichia coli*). A comparação dos resultados dos biotestes pré- e pós-tratamento (exceto para *D. magna*) demonstraram que este processo de biolixiviação reduziu a toxicidade e a quantidade de metais lixiviados. Além disso, as baixas concentrações de Cu e Zn encontradas na cevada apóiam a suposição de que o processo de biolixiviação, por diminuição da concentração dos metais e biodisponibilidade, reduziu a toxicidade do lodo urbano. Este estudo também enfatizou o interesse em usar biotestes para avaliar o potencial tóxico de biosólidos. Em particular, os biotestes terrestres após a simulação da aplicação no solo e o teste com Microtox, após a eluição, são os mais apropriados para estes procedimentos segundo estes autores.

Capítulo II

MÉTODOS E MATERIAIS

II – MÉTODOS E MATERIAIS

A parte inicial deste trabalho foi o de avaliar as características físico-químicas do lodo, sua classificação e obter um conhecimento da variabilidade dos contaminantes presentes. Em uma segunda etapa, realizamos uma avaliação qualitativa dos compostos orgânicos presentes numa amostra de lodo recente e na mistura de solo/lodo. Em uma terceira etapa, foi realizada uma análise físico-química e pedológica do solo. Posteriormente, foi realizada uma análise físico-química e fertilizante do lodo têxtil. Em um quinto estudo, realizamos uma avaliação do potencial fertilizante do lodo frente a espécie *Eucalyptus spp* e juntamente a este teste, avaliamos a atividade microbiana para verificar o impacto do lodo no solo. Em uma etapa posterior, avaliamos a capacidade de adsorção e a mobilidade dos metais no solo utilizado. Em uma última etapa, realizamos um estudo de toxicidade do lodo sólido e do lixiviado lodo para organismos terrestres e aquáticos e um tratamento estatístico dos resultados.

II.1 – ANÁLISE QUÍMICA DA AMOSTRA BRUTA, DO LIXIVIADO E DO SOLUBILIZADO DO LODO

O lodo usado neste trabalho foi gerado no tratamento físico-químico e biológico de efluentes originários das indústrias têxteis. O lodo foi coletado na Estação de Tratamento de Efluentes - Anglian Water Brusque Engenharia Ltda, localizada na cidade de Brusque, centro-norte do litoral de Santa Catarina.

A análise de classificação do lodo foi realizada segundo a Norma NBR 10004, 10005, 10006 e 10007 as quais permitem a classificação de resíduos. Os critérios estabelecidos nas NBR indicam a classificação em Classe I (perigosos), Classe II (não inertes) Classe III (inertes).

Neste trabalho foram realizadas análises periódicas (mensal) de amostras para o conhecimento da presença e variabilidade dos contaminantes. As análises de lodo bruto foram realizadas por digestão ácida segundo o método da APHA *et al.*, (1992). Os lixiviados das amostras foram realizados em condições ácidas (pH = 5) com ácido acético segundo a norma

(NBR – 10005) e a solubilização foi realizada em 7 dias de agitação da mistura lodo/água segundo NBR – 10006. A composição de metais do lodo, do lixiviado e o solubilizado foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica em chama utilizando um aparelho Hitachi Z 8230 com corretor de Zeeman.

II.2 – ANÁLISE QUALITATIVA DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS

Esta etapa foi realizada para avaliar a presença de compostos orgânicos no lodo recentemente coletado, bem como a degradação dos compostos ainda presentes após 18 meses de compostagem da mistura lodo/solo em condições naturais.

Procedimento:

A extrações foram feitas a partir de 10 g do solo/lodo ou lodo, por 3x 30 mL de CH_2Cl_2 em ultrassom durante 10 minutos, depois foi acrescentado 1 g de sulfato de sódio anidro. Para a amostra de solo/lodo, foi usada uma plaquinha de cobre metálico dentro do béquer no momento da extração para remover compostos de enxofre que são bastante comuns nesta matriz. Depois estas frações foram concentradas em rotaevaporador e passadas por uma micro-coluna de sílica.

Equipamentos e condições analíticas utilizados para as análises:

Cromatografo Gasoso Varian[®] CP-3800 acoplado ao Espectrômetro de Massas Saturn[®] 2000

Coluna: CP-Sil 8 CB Low Bleed/MS 30 m x 0,25mm – filme 0,25 μm .

Temp. injetor: 250°C

Column Oven: 60°C – 2 min.

240°C – 3°C/min.

Carrier gas He – Constant Flow 1 ml/min

MS

Temp. Íon Trap: 220°C

Temp. Manifold: 80°C

Temp. Transferline: 240°C

Software de gerenciamento: Saturn[®] GC/MS Workstation 5.51

II.3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA E PEDOLÓGICA DO SOLO

O solo utilizado nos experimentos foi coletado na região de Brusque SC (Tipo – Podzólico vermelho amarelo). As principais características físico – químicas e pedológicas analisadas do solo foram: matéria orgânica total, carbono orgânico, pH, textura, CTC, areia grossa e fina, silte, argila e umidade. Os metais analisados foram: cromo total, zinco, molibdênio, cobre, cádmio, chumbo, mercúrio, arsênio e selênio. As análises foram feitas segundo as metodologias descritas no Manual de Análises do Solo – EMBRAPA, 2ª edição, 1999. Os metais foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (APHA *et al.*, 1992).

II.4 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA E FERTILIZANTE DO LODO TÊXTIL

O lodo foi analisado para os parâmetros: pH, umidade, DQO, DBO, carbono orgânico, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, relação carbono: nitrogênio, fósforo, potássio e os metais: alumínio, arsênio cádmio, chumbo, cobre, cromo, ferro, manganês, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco. Para este teste foi realizada apenas uma coleta igual a II.1. As análises foram feitas segundo as normas estabelecidas pela APHA *et al.* (1992).

II.5 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FERTILIZANTE DO LODO COM ESPÉCIE VEGETAL *Eucalyptus spp*

Com o interesse em usar lodo como fertilizante no solo, misturou-se o lodo com solo em diferentes proporções percentuais (6,2-98; 12,5-87,5; 25-75; 50-50) a fim de estabelecer a melhor taxa de aplicação de lodo no solo, avaliando assim, a biomassa massa seca, a biomassa massa úmida, o crescimento e a quantidade de proteínas das plântulas do gênero *Eucalyptus spp*.

Para a realização deste teste foram cultivadas seis mudas de *Eucaliptus spp.* em caixas celulósicas de 60cm x 80cm, as quais continham solo puro e as misturas em diferentes proporções, como demonstra a **Figura 7**. As condições de realização do teste foram ambientais, sem controle da temperatura e umidade, com duração de 120 dias. No final desse período, a massa seca, massa úmida, altura e proteínas de cada planta foram quantificados e os dados analisados pelo método de Williams ($p \leq 0,05$) (Williams, 1971).

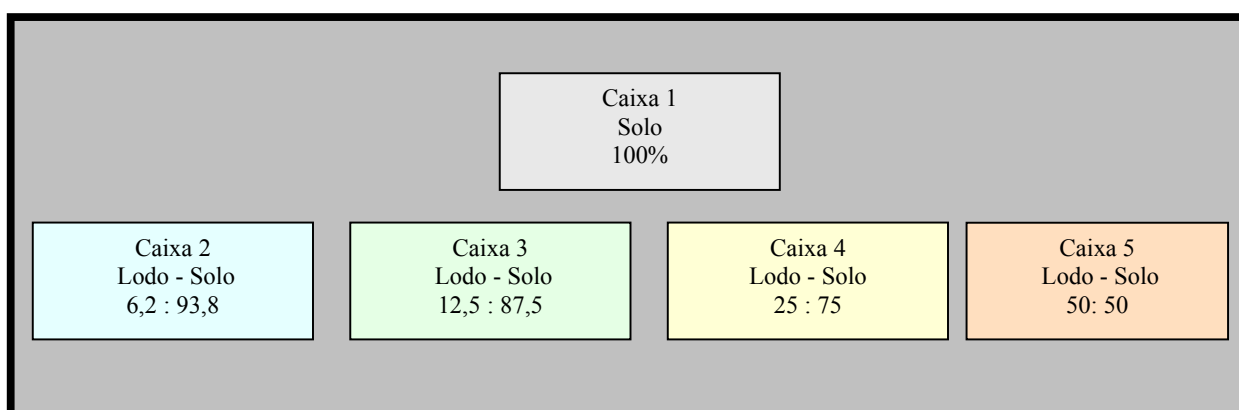


Figura 7: Misturas percentuais de solo-lodo, em caixas celulósicas, sob condições ambientais.

II.5.1- PARÂMETROS DETERMINADOS NESTE EXPERIMENTO (biomassa vegetal, biomassa vegetal seca, proteínas e altura)

- **Biomassa vegetal:** A biomassa vegetal foi obtida após a colheita das plântulas, através da pesagem de todas as plântulas (caule e folhas) por caixa-teste.
- **Biomassa vegetal seca:** A biomassa seca foi determinada gravimetricamente pesando 4g de folhas aleatórias de cada caixa-teste, as quais foram posteriormente secas na estufa a 70°C durante 12 h e novamente pesadas.
- **Altura:** A altura das espécies foram determinadas após a colheita das espécies medindo-as com fita métrica (cm).
- **Proteínas**

Para quantificar as proteínas, fez-se uma preparação especial seguindo as etapas mostradas na **Figura 8**.

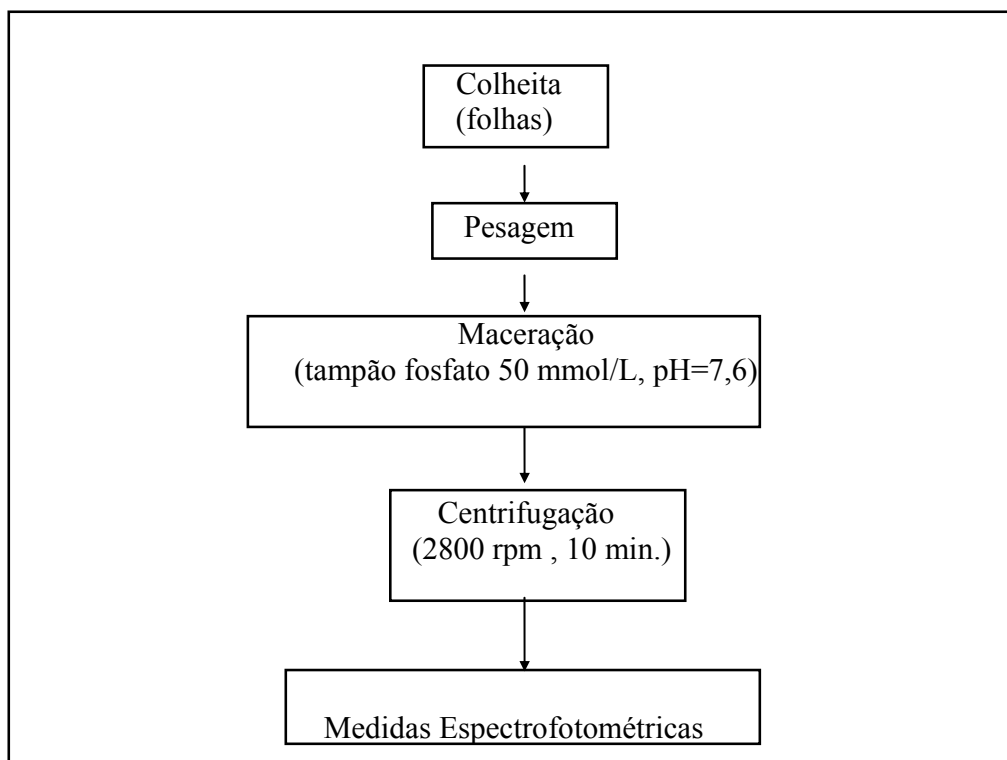


Figura 8: Etapas realizadas para as análises de proteínas.

As proteínas foram analisadas pelo método de BRADFORD (1976), o qual é rápido e sensível (KRESZE, 1983). O método consiste na utilização do corante Azul de Coomassie “G” (SERVA, 35050) que passa de laranja para azul em presença de proteínas. A cor azul resulta da interação dos grupos aniônicos do corante com os grupos amino das proteínas que estão na forma NH_3^+ .

Uma amostra de 1,5 g de biomassa de cada caixa teste foi misturada com 5 mL de tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (VETEC, 225 e 315) 0,05 M pH = 7,6 e macerada. As amostras maceradas de cada pote foram colocadas em tubos de centrifugação sob banho de gelo e depois centrifugadas a 2800 rpm durante 10 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um tubo de plástico com tampa (cubetas Eppendorf) e deixado por 12 horas no freezer em - 20 °C.

Para quantificar as proteínas das amostras, utilizou-se uma curva analítica feita com uma solução padrão de soro de albumina bovina - fração V - (SAB) 0,1% (MERCK, 12018).

Desta solução, retirou-se 80 μL e adicionou-se à 120 μL de solução tampão fosfato num primeiro tubo (com 5 mL de volume). Ao segundo tubo adicionou-se 100 μL de tampão e 100 μL do primeiro tubo e assim sucessivamente. Do quinto tubo, retirou-se 100 μL para que todos os tubos ficassem com o mesmo volume (**Figura 9**).

A cada tubo adicionou-se 4,5 mL da solução do Azul de Coomassie “G” e após 5 minutos, determinou-se a absorbância das soluções resultantes de SAB (40, 20, 10, 5, 2,5 $\mu\text{g/g}$) em 594 nm.

Concentração final de SAB ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	40	20	10	5	2,5
Volume (μL) Sol. padrão adicionada (100 $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$)	80	100	100	100	100
	+	+	+	+	+
Solução tampão adicionada (μL)	120	100	100	100	100

(Rejeitados)

Figura 9: Metodologia utilizada na preparação das soluções padrões do soro de albumina bovina (SAB), as quais serviram para fazer a curva analítica para a análise de proteínas.

Para a análise das proteínas nas amostras vegetais, a quantidade de proteínas em contato com o corante foi pré-determinada através de um estudo de diluição, o qual mostrou qual diluição deveria ser realizada para que a absorbância caísse na parte linear da curva padrão de SAB (*i.e.*, entre 5 e 40 μg proteína/100 μL). A diluição foi de 20/1000. As concentrações de proteínas encontradas nas amostras diluídas foram relacionadas com o massa úmida da planta da amostra analisada.

As proteínas foram analisadas pela variação da absorbância usando um Espectrofotômetro UV-Vis HEWLETT PACKARD 8452A.

II.5.2 - ATIVIDADE MICROBIANA DAS MISTURAS LODO/SOLO

Neste estudo, foi avaliada a influência da disposição do lodo têxtil na microbiologia de um solo com baixa produtividade vegetal. Para tanto, quantificou-se a hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF) pelas enzimas (lipases, esterases e proteases) presentes no solo. O esquema experimental consistiu no solo puro (controle) e em misturas de solo-lodo têxtil (92% de umidade) nas seguintes proporções lodo/solo têxtil: 6%-94%; 13%-87%; 25%- 75%; 50% - 50%. O controle e as misturas foram deixadas por um período de 120 dias em caixas celulósicas as quais possuíam espécie *Eucalyptus spp* plantandas. Após esse período, amostras com 2,5 g (massa seca) foram dissolvidos em 20 mL de tampão fosfato pH = 7,6 e alíquotas de 200µL de DAF foram colocadas em erlenmeyers fechados e incubados com agitação em 150 rpm e 24°C por 20 min. A quantificação da atividade enzimática foi realizada segundo a metodologia descrita por MONTEIRO (2000) em um espectrofotômetro (540 nm) UV-Vis HEWLETT PACKARD 8452A.

II.6 - ESTUDO DA INTERAÇÃO SOLO - LODO NA MOBILIDADE DOS METAIS

Para avaliar a mobilidade de alguns metais no solo florestal testado, foram realizados estudos em colunas de PVC (0,2 m de diâmetro e 1 m de comprimento) com suporte na base para coleta dos lixiviados, as quais continham misturas de solo-lodo (**Figura 10**). Assim, durante 24 semanas foi percolado semanalmente nas 9 colunas de PVC, contendo 60 cm de solo (20,484 kg massa seca) e 30 cm de lodo (0,63 kg massa seca), 500 ml de uma solução com pH=4 (solução de HCl), pH=7 e pH=10 (solução de NaOH), sendo três colunas para cada pH. A cada 15 dias foi retirado o lixiviado das colunas, correspondente a aproximadamente 150 mL. Os mesmos foram condicionados em recipientes de polipropileno onde se acrescentou ácido nítrico (HNO₃) evitando, desta forma, a precipitação dos metais pesados ao baixar o pH da solução para aproximadamente 2,5 e mantidos em 4°C. Posteriormente, juntou-se os lixiviados formando um volume único para cada coluna, pré concentrou-se as amostras com posterior análise dos metais (cobre, zinco, chumbo, cromo e níquel). As análises foram realizadas por Espectrofotometria de Absorção Atômica modelo Hitachi Z 8230 com corretor de Zeeman, segundo os protocolos da APHA *et al.*, (1992).

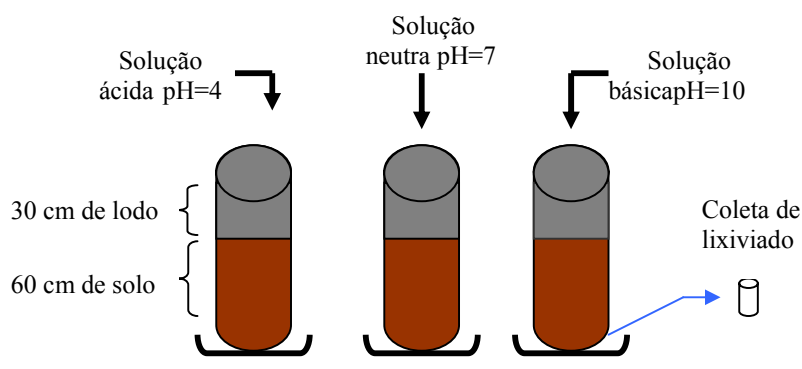


Figura 10 : Esquema experimental de colunas para avaliar a mobilidade dos metais.

II. 7 - ESTUDO DE ADSORÇÃO DOS METAIS NO SOLO

Esta etapa permitiu avaliar a capacidade do solo em adsorver metais. Foram quantificados vários parâmetros através da linearização das equações de Langmuir (equação a, pag 33) e Freundlich (equação b, pag 33). As isotermas de adsorção dos metais (Pb^{++} , Cu^{++} , Cr^{++} , Zn^{++}) foram feitas à temperatura ambiente e em $\text{pH} = 4,2$. Foram colocados em erlenmeyers de 250 mL, 2 g de solo previamente seco, 50 mL de solução de um dos sais [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 4g para $\text{Zn}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] e os pH's foram corrigidos com H_2SO_4 0,5 M ou NaOH 0,5 mol/L em cada estudo. As soluções padronizadas variaram de 2 a 270 ppm para o caso do chumbo, de 2 a 250 ppm para o cobre, 2 a 350 ppm para o cromo e 0,1 a 7,0 ppm para o caso do zinco. Deixou-se em agitação durante 24h para se atingir o equilíbrio. Posteriormente, as misturas metal/solo foram centrifugadas por 20 min e a fase líquida foi analisada por Espectrofotometria de Absorção Atômica Hitachi Z 8230 com corretor de Zeeman. A composição do solo utilizado no experimento é a mesma apresentada na **Tabela 7**.

II.8 - AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO LODO

II.8.1 – FITOTOXICIDADE

Este teste foi realizado para verificar a toxicidade do lodo frente a espécies vegetais selecionadas. Foram testadas 7 espécies diferentes. Destas 7 espécies vegetais testadas, 3 foram selecionadas (*Cucumis sativus*, *Eruca sativa* e *Brassica oleracea*) para a realização dos testes com a mistura solo/lodo. Neste experimento foi utilizado um solo enriquecido, próprio para o cultivo de hortaliças.

O esquema experimental para o teste de fitotoxicidade aparece na **Figura 11**. As plantas são expostas a uma gama crescente de concentração de lodo com 91% de umidade. O total de dados é 3 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao lodo. Para cada pote há, no mínimo, 12 plantas.

Controles	Lodo – Solo 3-97	Lodo – Solo 6-94	Lodo-Solo 12,5-87,5	Lodo- Solo 25-75	Lodo – Solo 50-50
Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1
Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2
Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3

Figura 11: Esquema experimental de um teste de fitotoxicidade

Os resultados dos testes são analisados estatisticamente, observando-se a normalidade ou não dos valores obtidos, a homogeneidade ou não das variâncias dos valores obtidos e os coeficientes de variação para cada conjunto de réplicas em um primeiro momento e para o conjunto todo de dados em um segundo momento.

- Parâmetros analisados

Germinação: A germinação consiste na contagem do número de sementes germinadas por pote (em porcentagem) no período de 7 dias. Neste trabalho, uma semente germinada é uma semente onde constatou-se a ruptura dos tegumentos e a aparição de um germe, sem presumir o seu desenvolvimento ulterior.

Biomassa vegetal: A biomassa vegetal é obtida após a colheita das plantas, através da pesagem de todas as plantas (caule e folhas) por pote-teste no final de 16 dias.

Biomassa seca: A biomassa seca foi determinada gravimetricamente pesando-se folhas aleatórias de cada caixa-teste, as quais foram posteriormente secas na estufa à 70°C durante 12 hs e novamente pesadas. Para a espécie *Cucumis sativus* foram utilizados 2,0 g de folhas. Para a espécie *Brassica oleracea* foi utilizada 1,0 g de folha. Para a *Eruca sativa* não foi determinado o parâmetro da biomassa seca.

II. 8.2- BIOTESTE COM ANELÍDEOS

O teste com anelídeos (*Eisenia foetida*) foi adaptado do trabalho realizado por SARTERBACK *et al.* (1999) com pequenas mudanças. Os organismos foram expostos a uma gama crescente de lodo da seguinte forma: misturas percentuais v/v de lodo úmido (91% de umidade) e matéria orgânica (dejetos bovinos) foram colocados em potes de plástico de 15 cm de altura e 15 cm de diâmetro. Em cada pote teste foram colocados 15 organismos e deixados 16 dias em câmara escura a temperatura ambiente. Os anelídeos foram obtidos de um minhocário da CIDASC (Centro de Estudos Agrônômicos de Santa Catarina Florianópolis SC). Para cada mistura teste foram realizadas triplicatas conforme esquema da **Figura 12**.

Controles	Lodo -MO 6-94	Lodo – MO 12,5 – 87,5	Lodo–MO 25 – 75	Lodo– MO 50-50
Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1
Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2	Réplica 2
Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3	Réplica 3

MO – matéria orgânica

Figura 12 : Esquema experimental do teste de toxicidade com anelídeos.

Os resultados dos testes foram analisados estatisticamente, observando-se a normalidade ou não dos valores obtidos, a homogeneidade ou não das variâncias dos valores obtidos e os coeficientes de variação para cada conjunto de réplicas em um primeiro momento e para o conjunto todo de dados em um segundo momento.

- Parâmetros analisados

Biomassa – A biomassa é obtida através da pesagem de todos os organismos no início e no final do teste.

II.8.3 – BIOTESTES COM LIXIVIADOS DO LODO

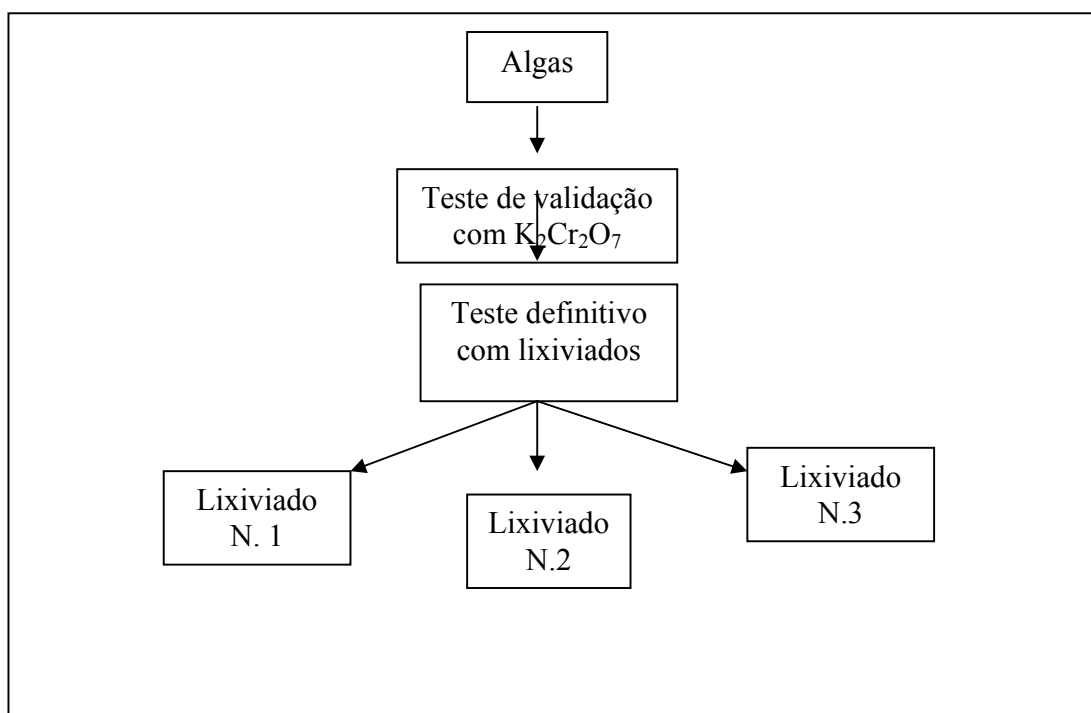
Nesta etapa, foi realizada uma bateria de bioensaios com organismos representativos do meio aquático. Todos os bioensaios foram realizados segundo as normas padronizadas da ISO. Esse experimento traz informações importantes sobre a toxicidade dos lixiviados frente aos organismos representantes da cadeia trófica aquática.

As amostras de lodo foram coletados em sacos plásticos, armazenadas a temperatura ambiente em lugar arejado. Os lixiviados foram obtidos de 3 amostras de lodo com idades diferentes (amostra nº6 = 8 meses, amostra nº7 = 3 meses e amostra nº8 = 10 dias). Os procedimentos de lixiviação foram realizados segundo a metodologia descrita pela norma NBR-10005.

A seguir serão descritos resumidamente os procedimentos dos bioensaios:

II.8.3.1 - TESTE COM ALGAS

Os testes com algas (*Scenedesmus subspicatus*, Chodat) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1990). A sequência dos trabalhos realizados com as algas está apresentada na **Figura 13**, sendo esta sequência também válida para os outros organismos testados.



– TESTES DEFINITIVOS COM ALGAS

Antes de iniciar o teste definitivo com algas foi realizado o teste de validação da metodologia com tóxico de referência (neste caso, K₂Cr₂O₇).

Foram testadas amostras dos lixiviados nas seguintes diluições: 100; 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1 %. Algumas precauções foram tomadas antes de começar o teste, *i.e.*; medidas físico-químicas como pH, OD, condutividade e dureza da amostra foram realizadas nas amostras antes de iniciar o teste e, quando necessário, o pH das amostras foi corrigido para $7,0 \pm 0,2$ com HCl 1 mol/L ou NaOH 1 mol/L. As amostras também foram filtradas com papel filtro comum. Com este organismo teste (Algas) foram realizados 3 testes com lixiviados de lodo de idades diferentes. Para cada concentração foram feitas 3 réplicas. No final do teste (72 horas, 3000 Lux) foram realizadas as medidas de fluorescência e determinada a CE₅₀%. A fluorescência das algas foi acompanhada em $\lambda = 685$ nm por um espectrofluorímetro (modelo RF - 551 SHIMADSU). O Oxigênio Dissolvido (OD), Condutividade e pH foram monitorados em um aparelho digital WTW Multilab P4.

II.8.3.2 - TESTE COM DÁFNIAS

Os testes com dáfias (*Daphnia magna*, Straus, 1820) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1994). A sequência dos trabalhos realizados com as dáfias foi similar ao das algas apresentado na **Figura 13**. Certas medidas físico-químicas foram feitas antes de se iniciar os testes, tais quais: pH, OD, condutividade e dureza do lixiviado. A solução nutriente também foi utilizada como diluente para o preparo das concentrações dos lixiviados. As dáfias foram expostas a uma gama decrescente de concentrações dos lixiviados (*i.e.*, 100; 75; 50; 25; 12,5; 6,1; 3,1%) e mantidas a $\pm 21^{\circ}\text{C}$ em uma incubadora durante 48 horas. Leituras de imobilidade das dáfias foram feitas nos períodos de 24 e 48 horas. No final do teste, foram realizadas medidas de pH e OD nas concentrações onde haviam grande número de organismos imóveis. Para cada concentração, foram feitas 3 réplicas com 10 organismos por réplica. Foram realizados 3 testes com lixiviados de diferentes idades.

II.8.3.3 - TESTE COM PEIXES

Os testes com peixes (*Poecilia reticulata*) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1993b). A sequência dos trabalhos realizados com os peixes foi similar ao das algas apresentada na **Figura 13**.

Inicialmente, foi preparada uma gama decrescente de concentrações dos lixiviados (*i.e.*, 100; 75; 50; 25; 12,5; 6,1; 3,1%). A água de diluição foi previamente filtrada. Em seguida, fez-se uma leitura de pH dos meios e corrigidos quando necessário com HCl 1 mol/L ou NaOH 1 mol/L. A diferença do pH entre os controles e as diluições dos lixiviados não pode exceder 0,2 unidades. Após a estabilização da temperatura ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) foi iniciada a colocação dos peixes no recipientes testes. As leituras dos organismos mortos foram determinadas 24 h após o início do teste. Foram realizados 3 testes com lixiviados de idades diferentes. Para cada concentração, foram preparadas 3 réplicas, cada uma contendo 10 organismos. No final do teste foi determinada a CICEO.

II.8.3.4 - TESTE COM BACTÉRIAS

Os testes com bactérias (*Vibrio fischeri*) foram realizados de acordo com a norma experimental ISO (1993a). A sequência dos trabalhos realizados com as bactérias, similar ao das algas, está apresentada na **Figura 13**.

- A solução de reconstituição foi descongelada e colocada no LUMIStherm por 15 min;
- As bactérias congeladas foram re-suspendidas em água corrente por 1 minuto, com posterior; adição de 0,5 mL da solução de reconstituição e colocadas no LUMIStherm por 15 min;
- Foi preparada uma faixa de diluições do lixiviado 3,1; 6,2; 12,5; 25, 50 e 80 %;
- Após os 15 minutos de re-suspensão das bactérias passou-se todo o volume do Eppendorf para o frasco contendo a solução de reconstituição. Agitou-se o frasco;
- Distribuiu-se 0,5 mL da solução de bactérias nas cubetas de teste, controlando o intervalo de tempo entre as distribuições (30 s);
- As bactérias ficaram em suspensão por 15 minutos nas cubetas antes da adição da amostra-teste;
- Transcorrido este tempo, fez-se a leitura da luminescência da bactérias (a cada 30 s) e adicionou-se a amostra-teste;
- Aguardou-se o período de exposição e fez-se a leitura com posterior cálculo da $CE_{50\%}$.

II. 9 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Faremos inicialmente um esclarecimento sobre a análise estatística dos resultados obtidos em nosso estudo, pois esta é de fundamental importância para avaliar ou prever os efeitos tóxicos dos lodos e lixiviados do lodo nos organismos vivos.

Com relação aos parâmetros analisados (*i.e.* alteração no crescimento, alteração na quantidade de proteínas, alteração na atividade microbiana, alteração da bioluminescência, imobilidade e letalidade), tivemos que escolher um método estatístico (paramétrico quando possível) para expressar numericamente os efeitos observados nos organismos. Existem duas alternativas, sendo que ambas foram usadas em nosso estudo.

A primeira alternativa é o teste de hipótese que determina se o efeito medido em um grupo (*e.g.*, tratado) difere de um outro grupo (*e.g.*, controle). A hipótese nula (H_0) é a de que não há diferença estatística entre os 2 grupos, enquanto que a hipótese não-nula (H_n) postula que há uma diferença estatística entre os 2 grupos. Algumas vantagens em usar este teste são:

- a) a análise estatística mostra o grau de variabilidade dos resultados (*e.g.*, C.V.);
- a) pode-se calcular a CICEO e a CSSEO;
- b) esta análise estatística pode ser aplicada para vários parâmetros (critério de efeito) em vários tipos de biotestes;
- c) facilidade no uso destes testes (*i.e.*, programas estatísticos disponíveis).

O Teste da Hipótese é útil para minimizar as chances de tomar uma decisão incorreta em termos probabilísticos. Assim, um erro do tipo α resulta na falsa conclusão que um efluente é tóxico quando na verdade não o é. Um erro do tipo β resulta na falsa conclusão de que um efluente não é tóxico quando na verdade ele o é. Os valores aceitos de α geralmente estão compreendidos entre 1 e 10%, sendo o valor de 5 % o mais utilizado em estudos ecotoxicológicos. De fato, a derivação de valores das CICEOs:

- a) depende das concentrações utilizadas nos testes (não há uma interpolação de valores);
- b) depende enormemente da “potência” do teste estatístico utilizado para derivá-la (grande variabilidade nos resultados reduz grandemente a sensibilidade do método);
- c) não fornece um intervalo de confiança (mas o C.V. fornece a informação sobre este intervalo);
- d) valores podem ser significativamente influenciados pelo fenômeno da Hormese.

A segunda alternativa como método estatístico é a estimação da concentração, o qual determina qual a concentração do tóxico que causa um efeito adverso em uma percentagem “p” de organismos. Os resultados podem ser expressos como Concentração Efetiva - $CE_{p\%}$, Concentração Letal - $CL_{p\%}$ (ou Dose Letal - $DL_{p\%}$) ou Concentração Inibidora - $CI_{p\%}$. Usa-se CE para dados ditos quânticos (*e.g.*, germinação, imobilização), CL (ou DL) para dados de

mortalidade e CI para variação percentual de dados ditos não-quânticos (*e.g.*, massa, comprimento). A estimativa da concentração geralmente é derivada de modelos matemáticos onde assume-se que existe uma relação concentração-resposta. Algumas vantagens em usar este método são:

- a) uso de todos os dados gerados na relação concentração-resposta;
- b) quantifica a precisão *intra* e *inter* laboratório;
- c) pode-se obter intervalos de confiança.

Algumas críticas dirigidas a este método estatístico são:

- a) a escolha do modelo apropriado para um estudo específico;
- b) a estimativa da concentração tóxica é dependente do modelo, principalmente para valores pequenos de “p”;
- c) a Hormese pode dificultar a modelagem dos dados;
- d) respostas (efeitos) que não são dependentes das concentrações utilizadas.
- e) escolha do valor “p” é arbitrária.

Considerando todos os aspectos das duas alternativas, preferimos avaliar a toxicidade do lodo bruto e dos lixiviados através da comparação das CICEOs, pois apesar das críticas que pesam sobre este critério, julgamos ser este critério o mais conveniente para nosso estudo. Quando isto não foi possível, como no caso das bactérias por possuir uma análise estatística intrínseca ao método adotado, comparamos então os valores de $CE_{50\%}$.

Dados de biomassa, taxa de germinação, proteínas, atividade microbiana, números de indivíduos imóveis (dáfias e peixes) e inibição da fluorescência (algas) foram gerados em triplicatas (ou duplicatas, ver descrição dos biotestes) para cada concentração (ou controle), sendo portanto $n = 2$ (ou 3). Valores de CICEO ou $CE_{50\%}$ foram determinados para cada parâmetro analisado. A CICEO é definida como sendo a mais baixa concentração do lodo ou lixiviado (diluição) testada que produz uma diferença maior que 5% nos parâmetros medidos (*i.e.*, biomassa, taxa de germinação, proteínas, números de indivíduos imóveis (dáfias e peixes), inibição da fluorescência (algas,) quando comparados com os parâmetros dos controles ($p \leq 0,05$). A $CE_{50\%}$ é a concentração efetiva que causa efeito em 50% da população de organismos quando comparada com a população controle. O coeficiente de variação em

porcentagem obtém-se pela relação : $\sigma/X \cdot 100$. O teste χ^2 foi usado para verificar a normalidade (curva de gauss) dos dados obtidos. O teste de Hartley foi usado para verificar a homogeneidade da variância dos dados obtidos. O teste de William's ou o teste de Fishers Exact Test ($p \leq 0,05$) foram usados para estabelecer as CICEOs (ou $CE_{50\%}$) nos biotestes. O software TOXTAT 3.0 foi usado para a análise estatística.

Capítulo III
RESULTADOS E DISCUSSÃO

III – RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LODO TÊXTIL

O primeiro estudo realizado foi a classificação do lodo têxtil através de análises químicas. Neste estudo, foram realizadas várias análises na massa bruta (**Tabela 3**), várias análises dos contaminantes mais característicos destes rejeitos no lixiviado (**Tabela 4**) e no solubilizado (**Tabela 5**) em diferentes tempos.

A **Tabela 3** apresenta os principais metais que são monitorados para análise de resíduos sólidos industriais de origem têxtil.

Tabela 3 - Caracterização físico-química do lodo bruto

Parâmetro analisado	Unidade	Resultado					Limite NBR - 10004*
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	
Arsênio	mg/kg	n.d.	-	-	-	-	1000,0
Cádmio	mg/kg	n.d.	-	-	-	-	100,0
Chumbo	mg/kg	20,96	11,0	4,97	15,93	17,74	100,0
Cobre	mg/kg	40,14	-	-	-	-	•
Cromo total	mg/kg	6,01	16,10	11,67	5,0	6,94	100,0 (Cr VI)
Mercúrio	mg/kg	0,082	-	-	-	-	100,0
Níquel	mg/kg	7,56	-	-	-	-	•
Selênio	mg/kg	n.d.	-	-	-	-	100,0
Zinco	mg/kg	937,70	-	-	-	-	•
Berílio	mg/kg	-	< 10,0	< 5,0	-	-	100,0
Vanádio	mg/kg	-	-	20,66	-	-	1000,0
Fenol	mg/kg	-	0,57	0,52	< 0,50	2,52	10,0

*Limites máximos estabelecidos pela Norma Brasileira – NBR 10004

- Não analisado

nd – não detectado

• limite não estabelecido

Dos resultados apresentados na **Tabela 3**, somente o cobre, níquel e zinco não estão na lista de metais recomendados pela NBR-10004 para monitoramento de resíduos sólidos brutos

industriais. Entre os metais analisados, arsênio, cádmio e selênio, estão ausentes na amostra 1. Entre os presentes, zinco foi o metal em maior quantidade.

A maior parte da carga dos contaminantes está contida nas impurezas inerentes à matéria-prima têxtil tais como: fiação e tecelagem, produtos auxiliares e corantes eliminados durante as diferentes etapas de acabamento. A qualidade e a quantidade da carga contaminante está intimamente relacionado com as fibras utilizadas para os tecidos.

Comparando os resultados obtidos com limites máximos dos metais estabelecidos pela norma NBR - 10004, verificamos que os metais encontram-se em concentrações bem abaixo das quantidades que caracterizam o resíduo como perigoso. Além dos metais, fenol também apresenta-se em quantidade inferior ao limite estabelecido.

Os resultados apresentados na **Tabela 3** apontam para resíduo não perigoso, uma vez que, todos os metais presentes na massa bruta listados pela NBR – 10004 estão em concentrações inferiores aos limites que o classifica como resíduo perigoso. No entanto, a determinação das concentrações dos metais nos ensaios de lixiviação e solubilização do lodo têxtil foi necessária para determinação da classe em que pertence o resíduo (Inerte - Classe III ou Não-Inerte - Classe II).

A **Tabela 4** apresenta os resultados dos metais cádmio, bário, chumbo e cromo total em 10 amostras de lixiviados do lodo têxtil em diferentes tempos.

Tabela 4 - Caracterização dos extratos da lixiviação do lodo

Mês/Ano	Parâmetro (mg/L)							
	Ba	Limite NBR*	Cd	Limite NBR*	Pb	Limite NBR*	Cr _T	Limite NBR*
Setembro/99			<0,005		<0,05		<0,05	
Novembro/99			<0,005		<0,05		<0,05	
Janeiro/00			0,006		<0,05		<0,05	
Março/00	0,18		<0,005		<0,05		<0,05	
Maio/00	< 0,10	100	<0,005	0,5	<0,05	5,0	<0,05	5,0
Junho/00	< 0,10		<0,005		<0,05		<0,05	
Agosto/00	0,15		<0,005		<0,05		<0,05	
Outubro/00	< 0,10		<0,005		<0,05		<0,05	
Novembro/00	0,11		<0,005		<0,05		<0,05	
Janeiro/01	0,12		<0,005		<0,05		<0,05	

*Limites máximos estabelecidos pela Norma Brasileira – NBR 10005

Percebe-se claramente através dos resultados na **Tabela 4** que os metais monitorados aqui encontram-se em concentrações abaixo dos limites estabelecidos pela NBR – 10005. É interessante observar que nas dez amostras analisadas num período de 16 meses, estes metais mantiveram-se praticamente constantes. Ficou claro que estes metais se presentes nas amostras, não lixiviam nas condições estabelecidas pela NBR – 10005

Na **Tabela 5**, estão apresentados os resultados das concentrações dos metais e fenol presentes na amostras do solubilizado do lodo.

Tabela 5 – Caracterização dos extratos da solubilização do lodo (mg.L⁻¹)

Mês/ano	Ba	Cd	Pb	Cr _T	Cu	Na	Zn	Al	Fe	Mn	Fenol	Se
Setembro/99	-	<0,005	<0,05	0,07	0,54	1872,22	-	19,36	15,58	0,50	-	-
	-	<0,005	0,07	0,08	0,26	1829,97	-	4,46	13,71	0,63	-	-
Novembro/99	-	<0,005	0,11	0,09	0,27	1996,49	-	9,11	17,05	0,64	-	-
Janeiro/00	-	0,001	0,009	0,06	0,23	2371,04	6,50	13,96	31,03	1,18	-	-
	-	0,006	<0,05	0,06	0,40	-	-	8,66	27,24	1,03	-	-
Abril/00	0,12	0,0008	<0,005	0,10	-	1935,67	-	7,87	49,82	0,87	-	-
Maio/00	-	<0,005	<0,05	0,08	0,15	2190,00	-	7,87	12,72	0,87	-	-
Junho/00	<0,1	<0,005	<0,05	0,11	0,29	2,93	3,88	11,11	45,97	0,75	<0,01	0,02
Agosto/00	<0,1	<0,005	<0,05	0,06	0,12	1,36	0,60	17,17	24,43	0,33	-	0,006
Outubro/00	0,32	<0,005	<0,05	<0,05	0,12	2,71	0,57	6,22	6,54	0,71	2,14	<0,005
Novembro/00	0,28	<0,005	<0,05	<0,05	0,11	2,66	0,43	5,22	5,55	0,43	16,10	0,023
Dezembro/00	0,30	<0,005	<0,05	0,09	<0,10	2,83	2,39	11,03	23,96	0,67	8,56	-
Janeiro/01	0,17	<0,005	<0,05	<0,05	<0,10	1,60	0,39	7,21	4,86	0,91	8,14	0,07

- = Não analisado

Em negrito: concentrações acima do limite permitido pela NBR 10006

Os resultados apresentados em negrito estão todos acima dos limites permitidos pela NBR-10006, demonstrando que no lodo têxtil há existência de metais que solubilizam em quantidades superiores aos permitidos pela norma.

Podemos observar na **Tabela 5** que em todas as amostras, o alumínio e ferro estão presentes. Cabe ressaltar que estes elementos são originários no processo de tratamento de efluentes, pois, sulfato de alumínio e cloreto férrico são utilizados como agentes coagulantes no tratamento físico-químico. O manganês e o fenol são originários dos processos têxteis.

Uma vez que o lodo têxtil não apresenta características de inflamabilidade, corrosividade, explosividade das quais condicionam a periculosidade, ou seja, resíduo Classe I, foram os testes de solubilização que definiram a classificação do resíduo como sendo Classe II - Não Inerte, pois alguns metais e fenóis apresentaram-se em concentrações acima do limite estabelecido pela NBR – 10006.

III.2 – AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS NO LODO E NA MISTURA DE LODO-SOLO

A análise cromatográfica da amostra bruta (lodo recente) em relação à amostra lodo/solo deixada em condições naturais (compostagem) apresentou resultados interessantes. Na **Figura 14** está o cromatograma ampliado da amostra bruta (lodo recente) e da amostra de lodo/solo deixada em condições naturais (compostagem). No **Anexo 1** estão os espectros de fragmentação de identificação dos compostos.

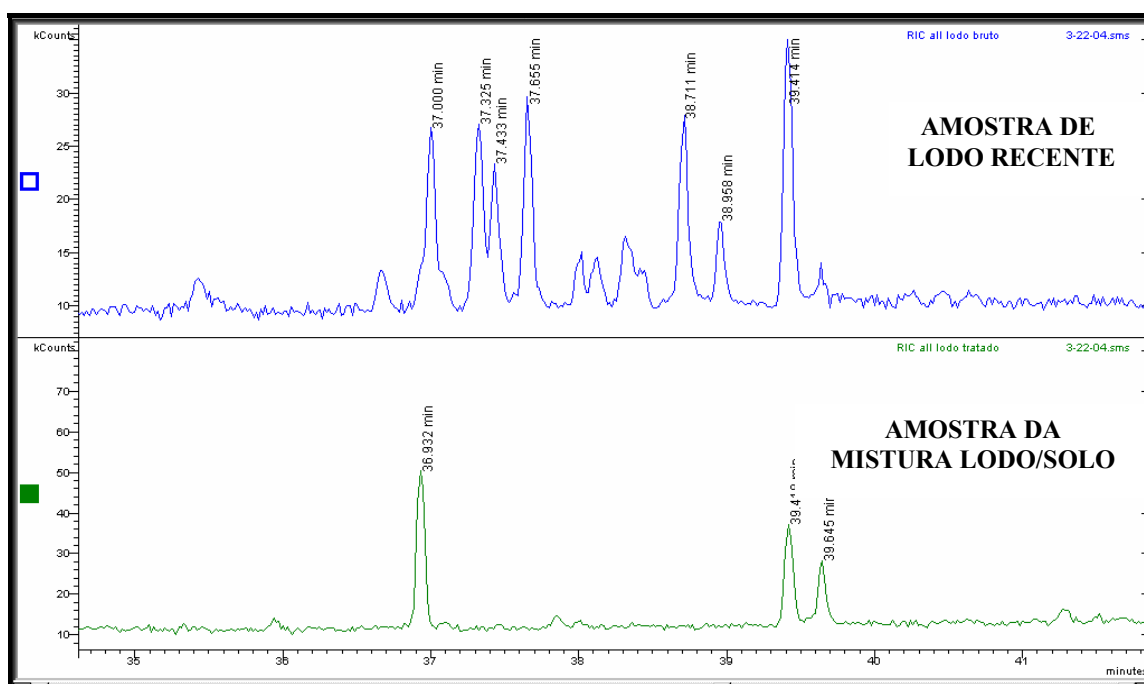


Figura 14 : Espectrograma de CG-MS para identificação de compostos orgânicos no lodo e lodo-solo.

Analizando o espectrograma (**Figura 14**), podemos observar na amostra bruta (lodo recente) a presença de derivados fenólicos. Já na amostra de lodo/solo houve o desaparecimento dos mesmos com exceção do composto 7 que está em menor concentração. Os compostos que aparecem na amostra lodo/solo são silanóis, e não possuem nenhuma relação com os compostos fenólicos. Os compostos identificados podem ser vistos na **Tabela 6**.

Tabela 6 – Análise de compostos orgânicos em amostras de lodo e na compostagem de solo lodo.

Nomenclatura dos compostos orgânicos	Compostos orgânicos presentes na amostra de lodo bruto	Compostos orgânicos presentes na amostra de lodo-solo
4 – (1,1,3,3-tetrametil butil) fenol (1 e 5)	Sim	Não
Nonyl fenol (2, 3, 4 e 6)	Sim	Não
Benzoato de benzila (7)	Sim	Parcialmente

() Número de identificação dos compostos no cromatograma

Os resultados apresentados na **Tabela 6** mostram que os compostos fenólicos se degradam quando o lodo é misturado com solo. Estudos como a taxa de degradação serão bem oportunos para ajudar a avaliar os limites desses compostos no lodo. No entanto, estudos de toxicidade, os quais foram feitos neste trabalho puderam avaliar as características toxicológicas do lodo em estudo.

No que tange às normas atuais para classificação de resíduos sólidos industriais, observa-se a ausência de grande parte dos compostos químicos e as concentrações limites, principalmente, nos lixiviados e solubilizados dos rejeitos. Assim, muitos rejeitos deixam de ser avaliados adequadamente permitindo resultados incongruentes com potenciais riscos ambientais.

Com respeito ao reaproveitamento de resíduos sólidos em solos agrícolas, as regulamentações existentes são bem disseminadas em relação a presença de metais presentes no lodo e na relação solo/lodo (**Tabela 1 e 2**) (USEPA, 1995, 1983; CEC, 1986). Já em relação aos orgânicos, poucas restrições existem a este respeito. A complexidade das interações químicas, físicas e biológicas entre compostos orgânicos tóxicos e os constituintes do solo tornam difícil generalizar sobre a taxa e a extensão das transformações destes

compostos para este meio (KORANTEJER, 1991; EMBRAPA, 2000). À medida que as pesquisas avançam no conhecimento do comportamento dos compostos orgânicos em misturas complexas, bem como no lodo/solo, restrições serão consideradas no sentido de proteger o meio ambiente e a saúde pública. Como exemplo disso, temos a proibição do pentaclorofenol (PCP) nos processos têxteis, o qual é um precursor na formação das dibenzo dioxinas.

Os resultados apresentados na **Tabela 6** confirmam a mineralização parcial dos compostos orgânicos determinados no lodo e na mistura de lodo/solo. Podemos ver que os compostos derivados fenólicos foram degradados naturalmente, ao passo que o éster benzoato de benzila degradou parcialmente. Estes resultados vão ao encontro dos estudos realizados por MADSEN *et al.* (2001), os quais avaliaram a degradação de compostos orgânicos em misturas de lodo/solo para três tipos de solo. Os compostos alquilbenzeno sulfonato (LAS), nonilfenol (NP), nonilfenol-di-etoxilato (NP2EO), Di - (2-etilhexil) ftalato (DEHP), pireno e 1,4 diclorobenzeno (DCB), foram estudados. O LAS, NP e NP2EO foram degradados na taxa de 50 à 81% em relação a quantidade inicial após dois meses, enquanto que o DEHP e o pireno foram mineralizados mais lentamente. A mineralização do DCB aumentou em altas quantidades de lodo. Os autores concluíram que não foi observada diferença na mineralização dos compostos (exceto DEHP) para as misturas de lodo com os três tipos de solos.

III.3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PEDOLÓGICA DO SOLO UTILIZADO

As principais características deste solo florestal, tais como, textura, pH, matéria orgânica, CTC, bem como a sua composição química estão descritas na **Tabela 7**.

Tabela 7 - Análise físico-química e pedológica do solo usado neste estudo.

Parâmetro analisado	Unidade	Resultado
Zinco (Zn)	mg/kg	34,89
Cobre (Cu)	mg/kg	11,99
Cádmio (Cd)	mg/kg	n.d. (0,0006)
Chumbo (Pb)	mg/kg	n.d. (0,02)
Cromo total (Cr _T)	mg/kg	13,14
Níquel (Ni)	mg/kg	7,33
Molibdênio (Mo)	mg/kg	n.d. (0,04)
Arsênio (As)	mg/kg	n.d. (0,2)
Ferro (Fe)	mg/kg	26646,70
Manganês (Mn)	mg/kg	8,61
Selenio (Se)	mg/kg	n.d. (1,0)
Alumínio trocável	cmol/L	7,34
Alumínio	cmol/L	2,4
Matéria orgânica total	%	0,3
Carbono orgânico	%	0,17
Nitrogênio total	%	0,16
Relação C : N		1 : 1
pH	-	4,4
Textura	-	Argiloso
CTC	meq/100 g	7,60
Areia grossa	%	18,0
Areia fina	%	8,0
Silte	%	14
Argila	%	60
Umidade	%	14
Cinzas	%	73,96

Em relação à composição química dos metais podemos constatar ausência de cádmio, chumbo, arsênio, selênio, bem como a presença de cobre, níquel, cromo e zinco que são de origem natural. Considerando os parâmetros que conferem a fertilidade do solo, podemos observar baixa quantidade de matéria orgânica, baixo percentual de nitrogênio, baixa atividade microbiana (C: N = 1 : 1), baixo pH e uma média capacidade de troca catiônica. Este solo também possui uma textura argilosa em razão do grande percentual de argila presente.

Observa-se no solo em estudo que o baixo pH, a baixa quantidade de matéria orgânica e a baixa atividade microbiana são fatores que justificam a necessidade de ações corretivas para melhor produtividade vegetal.

III.4 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DO POTENCIAL FERTILIZANTE DO LODO TÊXTIL

O lodo resultante do tratamento de efluentes em geral apresenta uma composição muito variável, dependendo da sua origem. Na amostra de lodo proveniente da ETE - Anglian Water Brusque Engenharia Ltda, a qual foi utilizada para os testes de produtividade vegetal, não há presença de coliformes fecais, seu pH é aproximadamente 8 e o mesmo apresenta uma demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 50 mg/L e a demanda química de oxigênio (DQO) de 252 mg/L (**Tabela 8**).

Tabela 8 - Análise físico-química e biológica do lodo proveniente da ETE da Anglian Water Brusque Engenharia Ltda.

Parâmetro analisado	Unidade	Resultado
Alumínio	mg/kg	15638,9
Arsênio	mg/kg	n.d.
Cádmio	mg/kg	n.d.
Chumbo	mg/kg	20,96
Cobre	mg/kg	40,14
Cromo total	mg/kg	6,01
Ferro	mg/kg	3942,87
Fluoreto	mg/kg	5,84
Manganês	mg/kg	30,64
Mercúrio	mg/kg	0,082
Molibdênio	mg/kg	n.d.
Níquel	mg/kg	7,56
Selênio	mg/kg	n.d.
Zinco	mg/kg	937,70
Nitrogênio total (N _T)	%	1,0
Nitrogênio amoniacal	%	0.08
Fósforo	%	1,0
Potássio	mg/kg	160,93
Matéria orgânica total	%	6,14
Relação C : N	-	6 : 1
pH (1: 1)	-	8.2
Umidade	%	93
Coliformes fecais	UFC	Ausentes
Bolores e leveduras	UFC/g ou mL	8,0 x 10 ³
DBO*	mg/L	50
DQO*	mg/L	252

* Dados obtidos no solubilizado

Analisando a relação DQO/DBO, temos uma razão igual à 5. Esta relação mostra a existência de matéria orgânica não biodegradável neste processo de tratamento. Outra explicação para este valor está na possibilidade de que a amostra seja tóxica para as bactérias presentes nos efluentes. Sabe-se que os compostos fenólicos tem poder bactericida, influenciando desta forma nos valores de DBO. Em relação aos metais nesta amostra, podemos observar que cádmio, selênio e arsênio se presentes estão abaixo do limite de

detecção do equipamento. Por outro lado, verifica-se a presença de chumbo, cromo, cobre, zinco e mercúrio. Embora estes metais estejam presentes, todos estão em concentrações inferiores às estabelecidas pela diretriz da CETESB, as quais são os mesmos valores estabelecidos pela USEPA (1995) para reaproveitamento de biosólidos no solo (**Tabela 2**). Entre os elementos importantes que caracterizam o lodo têxtil como um potencial fertilizante estão: cobre, manganês e zinco como nutrientes secundários e principalmente nitrogênio, fósforo e potássio como nutrientes primários para os vegetais, além da presença de matéria orgânica.

Um fator muito interessante observado no lodo têxtil é a ausência de agentes patogênicos (coliformes fecais). A ausência de coliformes fecais está relacionado a alta temperatura e ao alto pH que o efluente chega na ETE. Estes dois fatores, estabelecem condições inapropriadas para a sobrevivência de agentes patogênicos. A presença de fenóis certamente contribui para inexistência de agentes patogênicos. Esta ausência é importante quando comparamos aos lodos urbanos nos quais o quantidade é na ordem de 10^5 à 10^8 UFC (SANEPAR, 1999). É também interessante observar na **Tabela 8** o alto valor de umidade (93%) do lodo têxtil testado. Mesmo o lodo têxtil sendo desaguado por centrifugação, ainda apresenta um alto valor de umidade.

O custo para tratar e dispor resíduos sólidos é um fator econômico considerável para a indústria têxtil. Considerando este aspecto econômico, o custo para disposição em aterro industrial gira em torno de R\$ 170,00 à R\$ 200,00 por tonelada. A estação em questão produz em média 15 toneladas diariamente, tendo um custo mensal de aproximadamente R\$ 50.000,00. Além dos aterros industriais não resolverem o problema de destino final e do alto custo de disposição para as empresas, a busca de alternativas para reaproveitamento do biossólido têxtil é uma realidade a ser estudada.

Ao contrário de muitos trabalhos que consideram somente as quantidades de metais que estão presentes no lodo e limite máximo de acúmulo de metais no solo para reutilizá-lo (também a quantidade de nitrogênio e fósforo), este trabalho avalia essa questão de reaproveitamento incorporando nos estudos parâmetros ecotoxicológicos e a mobilidade de metais no solo.

Com o intuito de estabelecer o potencial fertilizante do lodo têxtil, o rendimento vegetal na base de massa úmida, massa seca, quantidade de proteínas e crescimento foi determinado e avaliado através de uma análise de variância unifatorial (ANOVA- one way). A **Tabela 9** apresenta os valores das médias, desvios padrões, significâncias estatísticas, valores calculados e tabelados segundo o teste de Williams (**Anexo 2**) para as misturas testadas de lodo-solo (6,2:93,8; 12,5:87,5; 25:75; 50:50). Constatamos que todas as misturas são diferentes do controle (caixa 1- solo 100 %), sugerindo que todos os tratamentos utilizados aumentam o rendimento vegetal, conferindo assim ao lodo um potencial fertilizante.

Os resultados obtidos na **Tabela 9** mostram que os parâmetros analisados (biomassa úmida, biomassa seca, proteínas, altura) para avaliar o potencial fertilizante foram afetados estatisticamente de forma significativa em todas as misturas de solo-lodo quando comparados com o controle. Os parâmetros apresentaram uma CICEO entre 6,2 % a 50 %. O coeficiente de variação para todos os parâmetros determinados enquadraram-se na faixa de 4,8 % a 40 %, sendo maior para as proteínas e a altura, porém com média de 22 a 26 % respectivamente.

Comparando os resultados podemos observar que o efeito fertilizante para biomassa úmida ocorreu na mistura 50-50 %, caracterizando uma CICEO de 50 %. Já para os parâmetros biomassa seca e altura, houve um efeito fertilizante em todas as misturas de lodo-solo, com CICEO de 6,2 %. Para as proteínas houve um efeito fertilizante na mistura lodo-solo 25-75 %, caracterizando uma CICEO de 25 %. Baseando-se no aumento da biomassa seca em relação ao controle, podemos apontar que a melhor proporção de lodo no solo no caso da fertilização está entre 25 a 50 %.

Tabela 9 - Parâmetros biológicos quantificados na plântula de *Eucalyptus spp* cultivada em fase sólida expostas à diferentes misturas percentuais de (L) lodotêxtil - (S) solo.
X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 6 (1 teste).

Lodo – Solo (%)						
	0 –100 Controle	6,2-93.8	12,5–87,5	25-75	50-50	CICEO
Biomassa ^a						
X	1,78	2,16	1,77	2,10	2,20*	50 %
σ	0,13	0,33	0,32	0,54	0,41	
CV	7,3	14,0	18,0	25,7	18,6	
Biomassa ^b						
X	1,13	2,94*	2,96*	3,34*	3,1*	6,2%
σ	0,22	0,14	0,37	0,38	0,16	
CV	19,5	4,8	18,0	11,2	5,2	
Proteínas^c						
X	39,22	37,5	32,8	28,8*	31,7*	25%
σ	5,74	10,8	10,6	5,9	4,5	
CV	14,6	29,0	32,0	204	14,2	
Altura (h)^a						
X	63,0	191,3*	125,6*	153,6*	137,0*	6,2%
σ	18,0	40,7	22,7	22,6	54,0	
CV	29,0	21,3	21,3	18	40	

a) Biomassa úmida (log Base 10 (X) . g peso úmido/planta)

b) Biomassa seca (g/2g planta)

c) mg proteína /g planta

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \geq 0.05$)

A estimulação do rendimento vegetal pode ser explicada em parte pela abundância de nutrientes presentes no lodo. Os ensaios para determinar as proteínas apresentaram problemas analíticos, pois em termos práticos é muito difícil haver um aumento da biomassa com uma diminuição na síntese de proteínas.

Paralelamente ao teste com a espécie *Eucalyptus*, foi avaliado o efeito do lodo no solo com relação à atividade microbiana.

A **Tabela 10** apresenta o efeito do lodo têxtil na atividade microbiana do solo durante o desenvolvimento da planta *Eucalyptus spp.*

Tabela 10 – Teste da atividade microbiana baseada na variação da fluorescência ($\mu\text{g}/2.5\text{g}$) da DAF na mistura solo-lodo. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 1.

[DAF] $\mu\text{g}/2.5\text{g}$ lodo- solo (base seca)	Lodo – Solo (%)					CICEO
	0-100 Controle	6,2-92.8	12,5-87.5	25-75	50-50	
X	37,6	35,9	41,6*	53,4*	49,2*	12,5 %
σ	0,2	0,2	3,4	3,1	0,8	
CV	0,5	0,6	8,0	6,0	1,6	

*Diferença Estatisticamente Significativa ($p \geq 0,05$)

Do ponto de vista microbiológico, a atividade microbiana tem sido um fator importante para avaliar o efeito de resíduos ou compostos químicos no solo (EMBRAPA, 2000; LEZCZYNSK e OLESZKIEWIC, 1996), uma vez que a atividade microbiana está diretamente relacionada à mineralização da matéria orgânica e biodisponibilidade de metais no solo (SASTRE *et al.*, 1996). Por outro lado, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos utilizando a atividade microbiana como parâmetro indicador de poluição (SARANGI *et al.*, 2001; SELIVANOVSKAYA *et al.*, 2001; HASSAN DAR, 1995).

Analisando os resultados da atividade microbiológica, observamos um aumento estatisticamente significativo desta à medida que aumenta a quantidade de lodo misturado com o solo (com exceção da mistura lodo-solo 6,2 –93,8), apresentando uma CICEO de 12,5%. O baixo coeficiente de variação mostra um boa reprodutibilidade do teste. O aumento na atividade microbiana comparada ao controle está relacionado com a presença de matéria orgânica na qual estão presentes carbono, nitrogênio e minerais, os quais aumentam a relação

C/N. A grande relação carbono nitrogênio pode imobilizar uma significativa quantidade de N, ou seja, quando a taxa de C/N excede 30/1, a imobilização se procede mais rápida do que a mineralização, mas se a taxa C/N for menor do que 15/1, a mineralização usualmente é dominante (BRAMRYD, 2001), aumentando a biodisponibilidade da matéria orgânica para os vegetais.

É interessante observar neste teste que as enzimas (*e.g.*, lipases, estereases e proteases) presentes nos microorganismos (as quais hidrolisam o diacetato de fluoresceína) não sofreram efeito inibitório perante os metais e compostos orgânicos solúveis que estão presentes no lodo. Esta conclusão é importante e altamente relevante para assegurar-nos que para essas quantidades de lodo no solo não há impacto negativo para a microbiota do solo nem mesmo para a maior proporção da mistura testada (50 - 50 %).

Este aumento pode ser atribuído à presença de nutrientes no lodo têxtil. Estes resultados concordam com Sastre *et al.* (1996), os quais avaliaram a atividade microbiana de lodo industrial e urbano no solo. A aplicação aumentou a atividade microbiana para ambos os lodos no solo, contribuindo para a gradual decomposição da matéria orgânica. Selivanoskoya *et al.* (2001) também atribuíram efeitos benéficos para atividade microbiana do solo quando testaram lodo urbano estabilizado anaerobicamente, compostado e não tratado. Sarangi *et al.* (2001) também reportaram um aumento da atividade das enzimas (protease, amilase, invertase, desidrogenase), bem como no rendimento da biomassa de *Oryza sativa* na aplicação de até 20 t/ha de cinzas originadas em um tratamento termal de resíduos urbanos.

Atualmente a aplicação de biossólidos na agricultura, principalmente oriundos de esgotos urbanos, vem sendo utilizada em várias culturas (*e.g.* plantas ornamentais, árvores frutíferas, cana-de-açúcar, gramíneas) com conseqüente aumento do rendimento das mesmas (KORENTAJER, 1991; KROGMAN *et al.*, 1997). Segundo Korentajer (1991), a composição do lodo urbano é extremamente variável. No entanto, em comparação com fertilizantes inorgânicos convencionais, o lodo urbano apresenta uma baixa concentração de nutrientes (*e.g.*, o lodo apresenta em sua composição aproximadamente 29 e 13,5 g.kg⁻¹ de N e P

respectivamente, enquanto os fertilizantes inorgânicos apresentam em sua composição 260 e 110 g.kg⁻¹ de N e P respectivamente).

Chakrabarti e Nashikkar (1994) também mostraram que lodo urbano teve efeitos favoráveis na germinação e no crescimento de quatro espécies florestais (*Tectona grandis*, *Bambusa sp.*, *Leucaena leucocephala*, *Gmelina arborea*, *Ciselpinnae ciperia*). Lodo da indústria de celulose e lodo urbano também foram testados com espécie *Eucaliptus grandis* em São Paulo. Os rendimentos vegetais foram superiores aos controles constatando o potencial fertilizante destes biosólidos (EMBRAPA, 2000). Henry (1991) obteve rendimentos no crescimento da espécie *Pseudotsuga menziesii* de 52 à 131 % em relação controle testando lodo primário de celulose como fertilizante. Ao avaliar o lodo secundário, os rendimentos foram de 112 à 319 % no crescimento em relação ao controle.

No sentido de estabelecer a melhor proporção de lodo/solo para o desenvolvimento da espécie *Eucaliptus*, recomendamos a proporção de 25 % de lodo no solo, pois a partir desta proporção, há um efeito inibitório das proteínas das plantas. Assim, problemas posteriores com a espécie vegetal (amarelamento, clorose, inibição do crescimento) podem ser prevenidos quando efeitos a nível molecular são detectados (ROSA *et al.*, 2003). Segundo Ferard *et al.* (1999), as alterações a nível molecular são geralmente os primeiros efeitos quantificáveis quando um vegetal é exposto a amostras tóxicas.

A proporção de 25% lodo/solo estabelecida para as espécie *Eucaliptus* vai ao encontro dos resultados obtidos para a atividade microbiana (**Tabela 9**), a qual teve um aumento a partir das misturas de 12,5%.

Uma comparação interessante entre as características dos biosólidos industriais e as características do lodo urbano, o qual já possui normas internacionais e pré- projetos de normas brasileiras, é apresentada na **Tabela 11**.

Tabela 11 – Concentrações de metais em lodo urbano da estação de Barueri SP (Mattiazzo e Pires, 2003) e no lodo têxtil da Anglian Water Brusque Engenharia Ltda.

Metal	Unidade	Lodos			
		Urbano			Têxtil
		Bio1	Bio2	Po	Aeróbio digerido*
Cd	mg/kg	13	14	17	-
Cr	mg/kg	347	324	609	16,1
Cu	mg/kg	770	2460	878	40,1
Mn	mg/kg	234	233	329	•
Ni	mg/kg	201	199	408	7,6
Zn	mg/kg	5472	2087	3488	937,7

Bio 1 e 2 - Biossólidos tratados com cal e cloreto férrico

Po - Biossólido tratado com polímeros

* Lodo têxtil Anglian water; • não analisado; - não encontrado nesta amostra

Partindo desta comparação, podemos verificar a grande diferença na quantidade de metais por quilograma no lodo têxtil em relação ao lodo urbano. Por outro lado, podemos dizer que a matriz orgânica de lodo urbano é muito mais complexa do que lodo têxtil. Além disso, a presença de patógenos, os quais são um dos principais problemas do lodo urbano, não é verificada no lodo têxtil em estudo.

Com relação ao reaproveitamento de biossólido, vários autores vêm realizando estudos sobre o potencial fertilizante do lodo proveniente de estações de tratamento de efluentes e de água (ELLIOTT e DEMPSEY, 1991; SASTRE *et al.*, 1996; SCHIMIDT, 1997; PHILLIPS *et al.*, 1997; LÓPEZ-MOSQUERA *et al.*, 2000; ANDRADE e MATIAZZO, 2000). Os mesmos concluem que os biossólidos apresentam potencial para uso na agricultura devido ao conteúdo de matéria orgânica e dos nutrientes, substituindo parte da adubação mineral. Contudo, as concentrações de macro e micronutrientes encontradas no mesmo não permitem classificá-lo como adubo, mas sim como condicionador de solo com função de aumento de produtividade, sendo sempre respeitado o limite de aplicação do mesmo no solo. Este limite é determinado através da experimentação científica, impedindo que a aplicação do lodo acarrete impacto negativo aos ecossistemas vizinhos.

III.5 - ESTUDO DA INTERAÇÃO SOLO-LODO NA MOBILIDADE DOS METAIS PESADOS E ADSORÇÃO METAL-SOLO

No ensaio de lixiviação forçada em coluna, contendo 60 cm de solo e 30 cm de lodo, foi percolado em cada coluna 500 mL de uma solução com pH 4 ou 7 ou 10, sendo três colunas para cada pH. Os metais analisados por 1,5 L de lixiviado (referente à soma das três réplicas) foram Pb, Cu, Cr, Ni, Zn. Destes metais, o Cu, Cr, Zn, Pb e Ni estavam presentes nas amostras do lodo; o Pb não estava presente na amostra de solo, como descrito na **Tabela 7** e **Tabela 8**.

A **Tabela 12** apresenta as quantidades metais lixiviados referentes aos metais presentes no lodo e no solo.

Tabela 12. Análise dos metais no solo lodo e lixiviado do lodo.

Parâmetros analisados	Solo (mg/kg)	Lodo (mg/kg)	Lixiviado (mg/L)		
			pH 4	pH 7	pH 10
Chumbo (Pb)	n.d. (0.02)	20,96	0,0065	0,0083	0,0133
Cobre (Cu)	11,99	40,14	0,0105	0,0096	0,0108
Cromo (Cr)	13,14	6,01	0,0054	n.d.	0,0385
Níquel (Ni)	7,33	7,56	0,0182	n.d.	n.d.
Zinco (Zn)	34,89	937,89	0,05384	0,05884	0,0845

As quantidades de metais lixiviados em pH 4 seguem a ordem $Zn > Ni > Cu > Pb > Cr$; em pH 7 $Zn > Cu > Pb$, sendo que os metais Cr e Ni apresentavam-se em concentrações menores que o limite de detecção do aparelho absorção atômica; em pH 10 $Zn > Cr > Pb > Cu$, como observado na **Tabela 12**.

Percebe-se claramente através dos resultados que, mesmo variando o pH das soluções percoladas, os metais praticamente lixiviam em todos os pHs. O Zn apresentou-se em maior proporção no lixiviado, pois o mesmo é o mais abundante no lodo. Outro fator interessante

observado nos resultados é a baixa concentração de metais nos lixiviados em relação as quantidades presentes no lodo-solo e baixo percentual de lixiviação (em pH=4, Zn=0,0014 %, Ni = 0,0040 %, Cu = 0,0013 %, Cr = 0,0006 % e Pb = 0,0160 %, em pH = 7, Zn = 0,0015 %, Cu = 0,0012 % e Pb = 0,0209 %, em pH = 10, Zn = 0,0021 %, Cu = 0,0013 %, Cr = 0,0013 % e Pb = 0,0335 %).

Nos estudos de adsorção dos metais em solução, foi avaliada a capacidade de adsorção dos metais (Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} e Zn^{2+}) pelo solo argiloso (o mesmo utilizado nos estudos em colunas) em pH 4, através dos parâmetros das isothermas de Langmuir e Freundlich (**Tabela 13**).

Tabela 13. Parâmetros de adsorção das isothermas de Langmuir e Freundlich do Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{6+} e Zn^{2+} em um solo argiloso.

Isoterma	Langmuir			Freundlich		
	Am^a	K^b	r^2	B^c	n^d	r^2
Cu^{2+}	0,32	1,05	0,973	0,10	2,6	0,979
Cr^{6+}	2,16	1,55	0,991	0,21	2,6	0,981
Pb^{2+}	0,35	1,31	0,965	0,15	3,4	0,938
Zn^{2+}	0,03	0,37	0,780	0,01	1,8	0,880

a) capacidade máxima de adsorção $mg\ g^{-1}$; b) constante que expressa a energia de adsorção; c) constante de adsorção; d) constante que expressa o grau de heterogeneidade.

Analisando os resultados apresentados na **Tabela 13**, podemos observar que o coeficiente de correlação (r^2) do cobre, cromo e chumbo, estão melhor correlacionados com os dados de Langmuir. Assim, podemos dizer que a adsorção é realizada em monocamada, forma característica das isothermas de Langmuir. Para o zinco, o coeficiente de correlação está melhor correlacionado com os dados de Freundlich, o qual este modelo é característico para adsorção total de baixas concentrações de metais. Baseada nas quantificações através da forma de Langmuir e Freundlich podemos estabelecer a ordem adsorção dos metais. A ordem decrescente de adsorção foi $Cr > Pb > Cu > Zn$.

A grande preocupação quanto à aplicação de biosólidos em terras agrícolas ou florestais está na contaminação de corpos de água, de ecossistemas vizinhos e da

bioacumulação na cadeia trófica dos metais presentes no lodo, através dos vegetais, microorganismos e organismos detritívoros (GOVE *et al.*, 2001; REDDING *et al.*, 2002).

A adsorção é o processo geoquímico mais importante que controla a mobilidade dos metais no solo (ANTONIADIS e ALLOWAY, 2002), a qual é dependente do pH e das condições redox (RICHARDS *et al.*, 2000). A interação dos metais com o solo é complexa e envolve inúmeros mecanismos. No solo, os metais pesados podem estar adsorvidos eletrostaticamente nos sítios de troca (*i.e.* adsorção não específica), incorporados na superfície da fase inorgânica através de ligações covalentes ou semicovalentes (*i.e.* adsorção específica), participando de reações de precipitação e dissolução, ligados a compostos orgânicos e na solução do solo (McBRIDE, 1994). Pequenas variações no pH podem causar grandes modificações nesses sistemas, tornando os metais disponíveis para novas interações (RICHARDS *et al.*, 2000).

Percebe-se que o solo apresenta uma quantidade considerável de metais (**Tabela 7**). Os metais no solo são resultantes de processos naturais como o intemperismo, sendo que a quantidade de metais é determinada pelo teor dos mesmos nas rochas e pelo grau de intemperização que estas sofrem. Apesar disso, é incorreto afirmar que o lodo não exerce influência na lixiviação dos metais. Mesmo que estes não sejam provenientes do mesmo, a matéria orgânica presente no lodo quando dissolvida reduz a adsorção dos metais pelo solo, por competir com os íons livres, formando complexos organo-metálicos solúveis que aumentam a disponibilidade dos metais para as plantas e conseqüentemente para lixiviação (GUISQUIANI *et al.*, 1998). Richards *et al.* (2000) e Martinez *et al.* (2001) em suas pesquisas confirmam que a gradual liberação de metais presentes no lodo influencia a composição do solo. Ressalta-se que as reações que controlam a disponibilidade dos metais no sistema são complexas, sendo que estes podem ser encontrados ligados a frações orgânicas e inorgânicas do solo (YONG *et al.*, 2001). Gerritse *et al.* (1982) sugerem que, enquanto a quantidade adsorvida está relacionada com a matéria orgânica do solo, a força de adsorção está relacionada com o pH. Estes autores demonstraram que em solos arenosos, com baixa proporção de matéria orgânica, a adsorção pode ser baixa e a lixiviação pode ser alta. Sugerem, ainda, que os biosólidos aumentam a mobilidade dos elementos no solo, devido à

combinação de complexos orgânicos, da alta concentração de metais e alta troca iônica na solução do solo. No presente estudo, houve lixiviação em todos os pHs (4, 7 e 10) , sendo maior em pH 10 para todos os metais analisados, com exceção do Ni que se apresentava em concentração inferior ao limite de leitura do aparelho de absorção atômica. O alto valor de DQO (250) demonstra a grande quantidade de matéria orgânica solúvel presente no lodo, justificando assim a lixiviação dos metais em pH ácido, neutro e básico, carregados pelos sólidos orgânicos dissolvidos (LEE *et al.*, 1996; RICHARDS *et al.*, 2000).

Martinez *et al.* (2001) conduziram um estudo com lixiviação forçada, utilizando três amostras de solos tropicais brasileiros. Os resultados demonstraram que para os metais Pb e Cu, a matéria orgânica exerce uma forte relação com fator de retardo (i.e., comportamento oposto à mobilidade), mostrando que complexos e quelações orgânicas determinam o movimento destes metais. Xiao *et al.* (1999) relatam em seus estudos que misturas solo/lodo com elevadas concentrações de matéria orgânica dissolvida (DOM) apresentavam alta lixiviação de metais. Jordan *et al.* (1997) encontraram aumento significativo na solubilidade de Pb na presença de DOM. Lamy *et al.* (1993) e Lee *et al.* (1996) observaram um aumento na mobilidade de Cd na presença de DOM.

Resultados parecidos foram obtidos nesta pesquisa, onde ocorreu lixiviação dos metais mesmo em pH elevado sugerindo assim que a matéria orgânica presente no lodo possa ter influenciado a lixiviação dos metais. A quantidade de metais lixiviados em pH 4 seguiu a ordem $Zn > Ni > Cu > Pb > Cr$; em pH 7 $Zn > Cu > Pb$, sendo que os metais Cr e Ni apresentavam-se em concentrações menores que o limite de detecção do aparelho de absorção atômica; em pH 10 $Zn > Cr > Pb > Cu$, como pode ser observado na **Tabela 12**. Estes resultados sugerem que é improvável que os bio-sólidos aumentem o risco de contaminação dos corpos de água, sendo que as quantidades de metais no lodo estão abaixo dos limites estabelecidos pela USEPA (1995), para a taxa de aplicação testada, i. e., 34 % de lodo (93% de umidade) e 66% solo (14% umidade). As quantidades de metais lixiviadas em todas as colunas são inferiores ou próximas aos limites estabelecidos para a água potável pela Organização Mundial de Saúde (OMS), União Européia (EU) e CONAMA 20/86, e inferiores ao limite de lançamento de efluentes em corpos de água, estabelecido pelo CONAMA, como descrito na **Tabela 14**.

Tabela 14. Limites para qualidade da água potável, estabelecido segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), União Européia (UE) e CONAMA - resolução nº 20, Art. 4º e Art. 21 (limite de lançamento de efluentes em corpos de água) e a análise do lixiviado do lodo têxtil estudado.

Parâmetros analisados (mg/L)	Lixiviado			OMS*	EU*	CONAMA	
	pH 4	pH 7	pH 10			Água	Efluentes
Chumbo (Pb)	0,0065	0,0083	0,0133	0,01	0,05	0,03	0,5
Cobre (Cu)	0,0105	0,0096	0,0108	1,00	3,00	0,02	1,0
Cromo (Cr)	0,0054	n.d. (0,059)	0,0385	-	-	0,05	0,5
Níquel (Ni)	0,0182	n.d. (0,045)	n.d. (0,045)	0,05	0,05	0,025	2,0
Zinco (Zn)	0,05384	0,05884	0,0845	3,00	5,00	0,18	5,0

* Valores publicados por GOVE *et al.* (2001).

Resultados semelhantes, quanto à mobilidade dos metais, foram observados por Gove *et al.* (2001), onde as quantidades de metais lixiviados seguem a ordem $Zn = Pb > Cu > Ni$, as quais eram compatíveis com os níveis de metais encontrados na mistura original de solo/lodo. Martinez *et al.* (2001) concluíram que os metais Zn e Cd apresentam alta mobilidade associada à baixa adsorção e os metais Cu e Pb apresentam um comportamento oposto.

Cabe ressaltar aqui que as próprias legislações se confundem quando tratam-se dos limites das concentrações dos metais quando descartados no meio ambiente, pois, o lixiviado do lodo não deixa de ser um efluente (**Tabela 14**). Se pensarmos por este lado, concentrações maiores de metais poderiam estar presentes no lixiviado baseando-se na resolução CONAMA 20/86 (CONAMA,1986).

O solo estudado, apesar de apresentar um pH relativamente baixo, apresenta uma capacidade de adsorção relativamente alta para os metais Pb^{2+} e Cu^{2+} na forma iônica, e Cr^{6+} na forma de cromato (forma comum no ambiente). Sendo o Cr^{6+} o metal que apresenta a maior adsorção, sugere-se que a argila constituinte do solo seja carregada positivamente, como pode ser observado na **Tabela 7**. A capacidade de adsorção dos metais é importante na determinação das quantidades de lodo que podem ser dispostas como fertilizante em solos agrícolas e florestais. Entretanto, no caso de disposição destes lodos nos solos, um estudo

complementar sobre a mobilidade de metais é de suma importância. Segundo Barry *et al.* (1995), com o conhecimento da densidade do solo e a capacidade máxima de adsorção, podemos estimar as taxas de aplicação no solo, dando maior segurança desta prática.

Nos estudos de adsorção para cada metal em solo em pH 4, apareceu a seguinte ordem: $\text{Cr} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Zn}$. Estes resultados mostram a ordem preferencial dos metais para este solo. Embora os metais no lodo estejam numa mistura complexa, a quantidade de metais lixiviados em pH 4 seguem a ordem $\text{Zn} > \text{Ni} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cr}$, confirmando a ordem de afinidade dos metais neste estudo. Por exemplo, o Zn que foi o menos adsorvido nos estudos de adsorção, foi o mais móvel nos estudos de mobilidade. Esta ordem de afinidade não é verdadeira para todos os solos, pois cada solo possui características diferentes e os lodos possuem composições diferentes, ou seja, cada caso deve ser avaliado de uma maneira específica.

Os metais Hg, Ni, Zn, Cu, Pb e Cr presentes no lodo apresentam-se em concentrações inferiores às recomendadas pela USEPA (1995); os metais As, Cd, Mo e Se encontram-se ausentes na amostra de lodo e os metais Al e Fe presentes em maior quantidade na amostra de lodo só lixiviam em pH abaixo de 4. Desta forma, pode-se concluir que este lodo apresenta um perigo de toxicidade baixa para o ambiente. Este resultado confirma as observações, descritas no decorrer deste trabalho, sobre o potencial fertilizante do lodo têxtil e sobre a ecotoxicidade deste lodo.

Baseado na classificação internacional das isothermas de adsorção, o presente estudo determinou as isothermas de Pb, Cu, Cr e Zn. As isothermas do chumbo e do cromo são características do modelo “H”, indicando forte interação adsorvente-adsorvato e adsorção total em fracas concentrações. As isothermas do cobre e do zinco são características do modelo “L”, muito frequente nos estudos de adsorção e indica fracas interações intermoleculares. Os modelos de isothermas de adsorção de Freundlich e Langmuir são as ferramentas mais utilizadas nos estudos de adsorção, podendo ser úteis para prever o comportamento dos metais em função das propriedades dos solos. Vários estudos de adsorção de metais pesados utilizam os mesmos modelos (ALLEONI e SILVEIRA, 2002; ARAÚJO e SOBRINHO, 2000; REDDING *et al.*, 2002).

Assim, Alleoni e Silveira (2002) estudaram a adsorção do cobre nos horizontes superficiais e sub-superficiais, em dois solos com avançado grau de intemperismo, no estado de São Paulo, em pH natural do solo. Concluíram que os horizontes superficiais adsorvem maiores quantidades de cobre em relação às sub-superfícies, evidenciando a influência da matéria orgânica nos processos de retenção.

Em outro estudo, Araújo e Sobrinho (2000) compararam os atributos do solo com os parâmetros obtidos dos modelos de isoterma de Freundlich e Langmuir para os metais Pb, Cu e Zn, determinando assim quais parâmetros se relacionavam melhor com a adsorção destes metais. Os mesmos concluíram que os atributos do solo que mais contribuíram com a adsorção dos metais foram: argila, carbono orgânico, capacidade de troca catiônica, ferro citrato ditionito-bicarbonato (FeD) e teor de alumínio total.

Redding *et al.* (2002) examinaram o efeito de complexos organo-metálicos na adsorção de cobre e zinco em solo argilo húmico e a influência destes complexos na lixiviação destes metais. Para isto, utilizaram as equações de Freundlich e Langmuir. As amostras de lodo que continham 97,4% de Cu e 63,2% de Zn complexados com matéria orgânica dissolvida, foram comparadas com uma solução controle sem matéria orgânica dissolvida. A comparação revelou que complexos orgânicos dificultam a adsorção de Cu e Zn. Na ausência destes, o nível de adsorção de Cu e Zn foi de 80%. Os estudos de Redding *et al.* (2002) concordam, assim, com os resultados obtidos na análise da mobilidade dos metais em nosso estudo.

III.6 – AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA

Os biotestes são ferramentas importantes para avaliar o impacto ambiental de misturas complexas ou compostos puros. O conhecimento sobre a natureza tóxica do lodo têxtil nos diferentes níveis tróficos nos permite maior segurança na avaliação do risco ambiental de misturas complexas no solo. O corrimento superficial do lodo provocado pela chuva pode atingir os recursos hídricos superficiais. Dessa forma, nada mais real do que o estudo

ecotoxicológico para avaliar e assegurar a prática de reaproveitamento de biosólidos em solos florestais.

Nesta etapa do trabalho, utilizamos os biotestes para avaliar a toxicidade do lodo têxtil bruto em suporte sólido frente às espécies de plantas e anelídeos que são representantes do ecossistema terrestre e análise da toxicidade dos lixiviados do lodo frente às espécies de bactérias, algas, dáfias e peixes, que são representantes do ecossistema aquático.

Os testes realizados em contato direto com vegetais e anelídeos nos permitiram avaliar a toxicidade do lodo tal qual. Já os testes com os lixiviados oriundos do lodo nos permitiram avaliar a toxicidade frente aos compostos químicos solúveis que se fazem presentes no lixiviado lodo.

A seguir estão descritos os resultados dos biotestes:

III.6.1 – BIOTESTE COM ESPÉCIES VEGETAIS

A **Tabela 15** apresenta os parâmetros clássicos de germinação, biomassa úmida e biomassa seca para espécie vegetal "*Cucumis sativus*" cultivadas em fase sólida frente a diferentes proporções de lodo-solo.

Tabela 15 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Cucumis sativus* cultivadas em fase sólida expostas à diferentes misturas de lodo - solo. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 3 potes.

	Solo	lodo – solo (%)					CICEO
	Controle	3-97	6-94	12.5-87.5	25-75	50-50	
% germ.							
X	72,2	91,5	74,8	83,3	91,5	80,5	n.d.
σ	26,5	8,5	21,9	16,5	8,5	9,6	
CV	37	9,3	29	20	9,2	12	
Biomassa^a							
X	5,1	8,3*	8,7*	8,6*	6,6*	5,2*	3 %
σ	0,37	2,1	1,1	0,06	0,6	0,2	
CV	7,2	25,0	12,6	0,7	9,0	4,0	
Biomassa^b							
X	1,76	1,82*	1,83*	1,83*	1,83*	1,83*	3%
σ	0,081	0,006	0,012	0,012	0,012	0,015	
CV	4,6	0,4	0,6	0,6	0,6	0,8	

a) g peso úmido/planta ($\times 10^{-1}$) b) biomassa seca g/2g de peso úmido

* diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$)

Analisando os resultados, podemos observar que não houve efeito estatisticamente significativo para germinação, ao passo que para biomassa úmida e biomassa seca houveram efeitos nas misturas de lodo-solo a 3 % segundo teste de Williams (**Anexo 3**). Assim, as CICEOs para biomassa úmida e seca foram nas misturas de 3 % de lodo no solo, porém, com efeitos estimulantes em relação ao controle. Observa-se claramente que a biomassa úmida é alta em baixas proporções lodo-solo e decresce à medida que aumenta a proporção de lodo no solo. Já para biomassa seca, os resultados foram praticamente constantes à medida que aumentam as proporções de lodo-solo, mas com valores superiores em relação ao controle. Os coeficientes de variação variaram de 0,4 a 37 % para os três parâmetros.

A **Tabela 16** apresenta os parâmetros biológicos quantificados nas plantas de “*Brassica oleracea*” cultivados em fase sólida expostas a diferentes proporções de mistura lodo-solo.

Tabela 16 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Brassica oleracea* cultivadas em fase sólida expostas à diferentes misturas de lodo - solo. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 3 potes.

	Solo Controle	3-97	Lodo – solo (%)			50-50	CICEO
			6-94	12.5-87.5	25-75		
% germ.							
X	89,7	81,7	79,3	94,7	94,7	33*	50%
σ	4,0	17,9	17,9	4,6	4,6	11,8	
CV	4,5	21,6	22,6	5,0	5,0	35	
Biomassa^a							
X	1,80	1,70	1,60	1,50	1,10*	0,23*	25%
σ	0,17	0,37	0,36	0,06	0,11	0,08	
CV	9,4	21,8	22,5	4,0	10,0	34	
Biomassa^b							
X	0,66	0,53	0,60	0,63	0,56	0,15*	50%
σ	0,06	0,25	0,10	0,06	0,06	0,05	
CV	9,1	47,2	16,7	9,5	10,7	33,0	

a) g peso úmido/planta (10^{-1}) b) biomassa seca g/ 1g de peso úmido

* diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

Os resultados apresentados na **Tabela 16** mostram que os três parâmetros foram afetados estatisticamente de forma significativa segundo o teste de Williams (**Anexo 4**), com as CICEOs de 50 % para germinação e biomassa seca e 25 % para biomassa úmida. Para esta espécie vegetal observamos que os efeitos foram inibitórios para os três parâmetros em relação aos controles. Os coeficientes de variação foram altos para algumas misturas (em média de 11,85 % para germinação, 17 % para biomassa úmida e 21 % para biomassa seca).

A **Tabela 17** apresenta os parâmetros biológicos quantificados nas plantas de “*Eruca sativa*” cultivados em fase sólida expostas a diferentes proporções de mistura lodo-solo.

Tabela 17 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de “*Eruca sativa*” cultivadas em fase sólida expostas a diferentes misturas de lodo - solo. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 1 (1 testes com triplicatas por concentração).

	0-100 Controle	3-97	6-94	lodo – solo (%)		50-50	CICEO
				12.5-87.5	25-75		
% germ.							
X	97,7	93,0	90,7	5,3	93,0	90,3*	50%
σ	4,0	7,0	8,1	8,1	7,0	16,7	
CV	4,1	7,5	9,0	8,5	7,5	18	
Biomassa^a							
X	1,87	2,20	1,87	1,57*	1,10*	0,60*	12.5%
σ	0,20	0,20	0,11	0,06	0,1	0,10	
CV	10,7	9,1	5,9	4,0	9,0	17,0	

a) g peso úmido/planta (10^{-1})

* diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A taxa de germinação e a biomassa úmida das plantas cultivadas nas misturas lodo-solo, quando comparadas às plantas controle, foram afetadas estatisticamente de forma significativa segundo o teste de Williams (**Anexo 5**). As CICEOs para germinação e biomassa úmida foram em 50 % e 12,5 %, respectivamente. O efeito foi inibitório para ambos parâmetros. Neste teste, não foi determinado o parâmetro de biomassa seca, pois a massa vegetal não foi suficiente para sua determinação.

A **Tabela 18** apresenta um quadro recapitulativo dos resultados considerando as CICEOs para todas os parâmetros dos testes de fitotoxicidade.

Tabela 18 - Quadro recapitulativo das CICEOs dos testes de fitotoxicidade.

ESPÉCIE	PARÂMETRO	CICEOs
<i>Cucumis sativus</i>	Germinação	-
	Biomassa úmida	3 % ↑
	Biomassa seca	3 % ↑
<i>Brassica oleracea</i>	Germinação	50 % ↓
	Biomassa úmida	25 % ↓
	Biomassa seca	50% ↓
<i>Eruca sativa</i>	Germinação	50 % ↓
	Biomassa úmida	12 % ↓

(↑) Aumento ou (↓) Diminuição

- sem diferença estatisticamente significativa

Analisando todos os parâmetros, podemos constatar que as CICEOs variaram de 3 % à 50 %, ou seja, houveram efeitos estatisticamente significativos em todas as proporções estudadas de lodo-solo.

Comparando o parâmetro de germinação nas três plantas, observamos que não houve diferença estatística para o *Cucumis sativus* em relação ao controle, ao passo, que para *Brassica oleracea* e *Eruca sativa* somente houve efeito inibitório na proporção de lodo-solo 50 % - 50 % (CICEO de 50 % ↓). Já para os outros parâmetros de biomassa úmida e biomassa seca, houveram efeitos em baixas proporções de lodo-solo. Para o *Cucumis sativus*, a biomassa úmida e a biomassa seca tiveram ambos CICEO de 3 % (efeito estimulante); para a *Brassica oleracea* 25 % e 50 %, respectivamente (efeito inibitório) e para a *Eruca sativa*, a biomassa úmida apresentou uma CICEO de 12% (efeito inibitório). Observando os três parâmetros, a germinação apresenta-se como parâmetro menos sensível.

O efeito estimulante está relacionado à presença de nutrientes essenciais para o crescimentos das espécies vegetais. Já o efeito inibitório pode estar relacionado ao sinergismo dos compostos químicos presentes no lodo.

III.6.2 – BIOTESTE COM ANELÍDEOS *Eisenia foetida*

Entre os organismos representantes do ecossistema terrestre, os anelídeos também destacam-se como importantes indicadores para avaliar o impacto de contaminantes no solo.

A **Tabela 19** apresenta os resultados da biomassa quantificados nos anelídeos *Eisenia foetida* expostos a diferentes misturas de lodo com o meio próprio do cultivo de anelídeos durante 16 dias.

Tabela 19 – Biomassa quantificada nos anelídeos expostos à diferentes misturas de lodo – solo durante 16 dias. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 3 potes.

	0-100 Controle	lodo – solo		(%)	50-50	CICEO
		6-94	12,5-87,5	25-75		
Biomassa (g)						
X	2,78	2,47	2,90	3,17	2,93	
σ	0,54	1,27	0,34	0,64	0,4	n.d ^a
CV	19	29	51	20	13,6	

a) não determinado

Analisando os resultados obtidos na **Tabela 19**, verificamos que não há diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) segundo o teste de Williams (**Anexo 6**). Os CVs foram elevados para algumas misturas (média de 26,5%). Uma grande variabilidade em testes com anelídeos foi também encontrado por Dorn *et al.*, 1998. Cabe ressaltar aqui que não houveram mortes de anelídeos em nenhuma mistura de lodo-solo.

Os anelídeos são importantes indicadores da qualidade do solo, pois suas atividades nos solos alteram as propriedades destes, aumentando o espaço ou fonte de alimentos disponível para outros grupos de organismos no solo (CALLAHAM *et al.*, 2002).

III.6.3 – BIOTESTES COM BACTÉRIAS *Vibrio fischeri*

A **Tabela 20** mostra as porcentagens de inibição da luminescência das bactérias expostas a diferentes diluições do lixiviado do lodo. Foram realizados três testes, um para cada amostra de lixiviado; também são mostradas as médias de CE₂₀ e CE₅₀ para cada tipo de lixiviado.

Tabela 20. Porcentagem de inibição da luminescência das bactérias *Vibrio fischeri* expostas a diferentes diluições do lixiviado do lodo durante 30 minutos. X= média da porcentagem de inibição (ou da CE₂₀ ou CE₅₀); n = 1 (1 teste com duplicatas)

% INIBIÇÃO	LIXIVIADO (%)							CE ₂₀ %	CE ₅₀ %
	0,0 controle	3,1	6,2	12,5	25	50	80		
AMOSTRA 6									
X	00	0,0	0,50	3,4	10,6	17,8	17,2	93,7	n.d
AMOSTRA 7									
X	0,0	-	4,9	13,6	22,6	36,5	46,5	20,7	n.d
AMOSTRA 8									
X	0,0	9,2	14,8	23,0	32,2	41,6	49,6	10,1	n.d

n.d – não determinado

Ao contrário dos outros biotestes, onde avaliamos a CICEO (Concentração Inferior que causa um efeito observável), aqui avaliamos os resultados através da concentração que causa inibição de 20 % ou 50 % da luminescência (CE₂₀ ou CE₅₀), isto porque os resultados já são emitidos pelo aparelho em termos de CE.

Analisando os resultados da **Tabela 20**, podemos constatar que o aumento da concentração do lixiviado aumenta a inibição da luminescência para as três amostras. Podemos observar nos resultados apresentados que nenhum dos lixiviados testados apresentaram CE₅₀. No entanto, o cálculo da CE₂₀ nos permite uma avaliação mais cautelosa

do efeito proporcionado para cada amostra, sendo mais fácil comparar a toxicidade das diferentes amostras de lixiviados.

Assim, comparando a CE_{20} das três amostras constatamos uma variação no grau de toxicidade. Para a amostra 6, o lixivado a 93 % causou o efeito de inibição de 20% na luminescência, já para as amostras 7 e 8 a CE_{20} foi atingida em baixas concentrações 20,7 % e 10,1 %, respectivamente ($CE_{50} = 20,7 \%$ e $CE_{50} = 10,1 \%$). Avaliando o grau de toxicidade de cada amostra, podemos dizer que a amostra 8 é 9,3 vezes mais tóxica do que a amostra 6 e 4,5 vezes mais tóxica do que amostra 7. Em uma ordem crescente de toxicidade para *Vibrio fischeri*, podemos estabelecer que a amostra 6 é a menos tóxica, enquanto a amostra 8 é a mais tóxica.

As razões para a variabilidade na toxicidade das três amostras, estão relacionadas com as diferentes idades do lodo, ou seja, amostra 8 é uma amostra recente e as amostras 6 e 7 são mais antigas. Isto está relacionado com o processo de estabilização (ou maturação) no qual o resíduo torna-se menos reativo (ou mais estável).

III.6.4 – BIOTESTE COM ALGAS *Scenedesmus subspicatus*

Na **Tabela 21** são apresentados os valores de fluorescência das Algas expostas aos lixiviados do lodo durante 72 horas.

Tabela 21. Fluorescência das algas (*Scenedesmus subspicatus*) expostas à diferentes diluições do lixiviado durante 72 horas. X = média; σ = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; n = 1 (1 teste com triplicatas por concentração).

% INIBIÇÃO	0,0 controle	LIXIVIADO (%)					CICEO
		6.25	12.5	25	50	100	
AMOSTRA 6							
X	296,4	601,6*	796,6*	683,4*	656,2*	307,7*	
σ	25,0	188,0	192,9	145,1	82,3	16,0	6,25%
CV	8,4	31,2	24,2	21,3	12,5	5,2	
AMOSTRA 7							
X	296,4	527,8*	587,8*	479,3*	331,8	283,3	
σ	25,0	11,0	61,7	24,0	23,4	30,9	6,25%
CV	8,4	2,0	10,5	5,0	7,0	11,0	
AMOSTRA 8							
X	296,4	321,0	183,0*	144,9*	63,4*	50,8*	
σ	25,0	50,6	17,1	29,5	2,5	9,5	12,5%
CV	8,4	15,7	15,7	20,3	4,0	18,7	

* diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$; teste de Williams)

Segundo os dados da **Tabela 21**, os testes com Algas apresentaram C.V.s aceitáveis. Em termos ecotoxicológicos, houve pouca diferença no grau de toxicidade entre as amostras 6, 7 e 8 frente às algas *Scenedesmus subspicatus*, diferença esta regida por um fator de 2, com CICEO de 6,2 % para as amostras 6 e 7 e 12,5 % para a amostra 8 segundo o teste de Williams (**Anexo 7**). Os resultados dos testes com algas mostram um aumento da biomassa em baixas concentrações e decréscimo em altas concentrações para as amostras 6 e 7 (fenômeno denominado Hormesis). Na amostra 8 houve inibição da biomassa em todas as concentrações do lixiviado. A provável explicação para estes resultados nas amostras 6 e 7 repousa na composição nutritiva do lixiviado, o qual contém compostos de fósforo e nitrogênio. No caso da amostra 8, o efeito dos contaminantes presentes se sobrepõe à presença de nutrientes, por isso observamos um efeito inibitório no crescimento das algas.

III.6.5 – BIOTESTE COM *Daphnia magna*

A **Tabela 22** apresenta os resultados obtidos quando da exposição das dáfias às três amostras de lixiviados do lodo durante 48 horas.

Tabela 22. Dáfias expostas à diferentes diluições do lixiviado durante 48 horas.
X = número de dáfias móveis; n = 1 (1 teste com duplicatas por concentração).

NºDE DAFNIA MÓVEIS	LIXIVIADO (%)						CICEO
	0,0 controle	3,1	6,2	12,5	25	50	
AMOSTRA 6							
X	20	20	20	20	20	20	7* 100%
AMOSTRA 7							
X	20	20	20	20	20	20	20 n.d.
AMOSTRA 8							
X	20	20	20	20	20	16	14* 100%

n.d – não determinado

* diferença estatisticamente significativa (Fishers ExactTest)

Geralmente exprime-se os resultados dos testes de dáfias em termos de Concentração Efetiva (20, 50 ou 80 %), calculada através de métodos específicos (regressão linear, escala Probit, ICP, etc.). Nós preferimos comparar os resultados destes testes através dos valores das CICEOs. Pelo fato dos resultados não seguirem a lei da normalidade e não apresentarem homogeneidade da variância, tivemos que usar um método não-paramétrico para obter os valores das CICEOs. Desta forma, o lixiviado do lodo bruto apresentou um efeito tóxico significativo quando puro nas amostras 6 e 8, enquanto o lixiviado da amostra 7 não apresentou toxicidade significativa frente às dáfias.

III.6.6 – BIOTESTE COM PEIXES *Poecilia reticulata*

Na **Tabela 23** são mostrados os resultados da mortalidade dos peixes expostos à diferentes diluições dos lixiviados.

Tabela 23. Peixes expostos a diferentes diluições do lixiviado durante 24 horas.
X = número de peixes vivos; n = 3 (1 testes com triplicatas por concentração).

Nº DE PEIXES VIVOS	LIXIVIADO (%)							CICEO
	0,0 controle	3,1	6,2	12,5	25	50	100	
AMOSTRA 6 X	20	20	20	20	20	20	20	n.d
AMOSTRA 7 X	20	20	20	20	20	20	20	n.d.
AMOSTRA 8 X	20	20	20	20	20	17	15*	100%

n.d – não determinado

* diferença estatisticamente significativa (Fishers ExactTest)

Pelo fato de haver variância igual a zero para várias concentrações tivemos que usar um teste estatístico Não-Paramétrico na análise dos resultados (Fishers Exact Test). Assim, no caso dos peixes obtivemos uma CICEO de 100 % para amostra 8, enquanto que as amostras 6 e 7 não apresentaram nenhum grau de toxicidade para esta espécie de peixes.

De modo geral os resultados apresentaram grande variabilidade na toxicidade entre os organismos testados. A variabilidade das CICEOs encontra-se relacionada com as diferenças das sensibilidades dos organismos ou parâmetros utilizados, os quais são refletidos pela variabilidade da biodisponibilidade das espécies químicas presentes no lodo têxtil.

Percebe-se através dos resultados da **Tabela 18** que as plantas respondem diferentemente para o mesmo parâmetro e o mesmo tipo de bio sólido, conforme dados da literatura (BEDELL *et al.*, 2003; ROSA *et al.*, 1999; GERASK *et al.*, 1980). A menor sensibilidade apresentada para a germinação em relação à biomassa úmida e biomassa seca, vem a concordar com os trabalhos já publicados (FERARD *et al.*, 1999; RATSCH, 1983; USEPA, 1982).

As plantas pertencem a um grande e diverso reino de organismos, assim, elas podem responder de forma bem diferenciada quando expostas a um tóxico. Não obstante, a questão da sensibilidade dos organismos utilizados nos biotestes é muito complexa, pois ela depende de vários fatores que se inter-relacionam: natureza do tóxico, condições ambientais, metodologia dos testes, etc... Mesmo quando estes fatores são controlados, variáveis intrínsecas dos organismos (*e.g.*, composição genética, fisiologia e metabolismo toxicológico) podem afetar suas sensibilidades (BURTON *et al.*, 1996; SOARES *et al.*, 1992). Em uma escala de sensibilidade inibitória para as três espécies testadas, observamos que a *Eruca sativa* é a planta mais sensível ao lodo, enquanto o *Brassica oleracea* é a menos sensível.

Em relação aos testes realizados com lodo sólido (*i.e.*, vegetais e anelídeos), estes reforçaram as quantidades mais adequadas para se aplicar lodo no solo, sendo que não houve toxicidade significativa para os anelídeos. Os resultados apontaram para misturas entre 12 e 25 % de lodo/solo. Estes resultados vêm ao encontro do testes de potencial fertilizante realizados com as espécies de *Eucalypto spp*, na qual chegamos a conclusão que a melhor proporção de aplicação de lodo no solo foi de 25 %. Poon e Chu (1999), mostraram a viabilidade de se plantar em solo corrigido com lodo urbano secundário estabilizado anaerobicamente.

Na avaliação da toxicidade dos lixiviados foram obtidos resultados interessantes para as diferentes amostras de lodo. Todas as espécies utilizados foram afetadas em termos tóxicos. Os resultados apontaram maior toxicidade para as amostras não-estabilizadas. Isto porque, nas amostras recentes, maior é o efeito conjunto da mistura complexa, principalmente dos compostos orgânicos, os quais nas amostras mais estabilizadas já se degradaram ao menos parcialmente.

No contexto de estabelecer biotestes mais adequados para monitorar a qualidade do lodo têxtil, bem como a possibilidade de reutilização em solos florestais, a comparação das sensibilidades dos testes foram consideradas. Assim, a **Tabela 24** resume os resultados dos biotestes realizados, comparando a espécie mais sensível ao parâmetro mais sensível para o lodo na fase sólida ou lixiviado.

Tabela 24. Resultados do potencial tóxico do lodo têxtil sólido e dos lixiviados obtidos com diferentes biotestes. Os valores das CICEOs são mostrados para os vegetais (planta mais sensível ao parâmetro analisado), Anelídeos e para algas, dáfias e peixes (lixiviado com maior efeito) enquanto que os valores das CE_{20%} são mostrados para as bactérias.

Teste	Suporte sólido/líquido	Parâmetros de avaliação	Tempo de exposição	Parâmetro medido	Medida de toxicidade (UT)
Fitotestes	Fase sólida	Germinação	16 d	100/CICEO	2
		Biomassa úmida	16 d	100/CICEO	2
		Biomassa seca	16 d	100/CICEO	8
Anelídeos	Fase sólida	Biomassa	14 d	100/CICEO	N.T.
Bactérias	Lixiviado	Bioluminescência	30 min.	100/EC _{20%}	9,9
Algas	Lixiviado	Crescimento	72 h	100/CICEO	16
Dáfias	Lixiviado	Mortalidade	48 h	100/CICEO	1
Peixes	Lixiviado	Mortalidade	24 h	100/CICEO	1

N.T. – não tóxico

U.T – unidade tóxica (correspondente a 100/CICEO ou 100/EC_{20%})

A Unidade Tóxica (UT) apresentado na **Tabela 24** fornece uma indicação relativa da diferença de toxicidade entre organismos frente ao lodo bruto e lixiviado. Quanto maior for o valor de UT, maior é a toxicidade. Os resultados apresentados na **Tabela 24** mostraram que as algas apresentaram maior sensibilidade (16 UT) frentes a todos os outros organismos testados. Do ponto de vista toxicológico, as diferenças nas toxicidades não variaram muito, ou seja, as algas apresentaram um fator de sensibilidade de 1,6 vezes maior que as bactérias, 2 vezes maior em relação às plantas e 16 vezes maior com relação aos outros organismos estudados.

Obviamente que a comparação dos resultados entre os testes realizados em suporte sólido (vegetais e anelídeos) e os testes realizados com os lixiviados (bactérias, algas, dáfias e peixes) é limitada ou até mesmo difícil, pois a diluição de 50% no lixiviado não é a mesma coisa que a mistura de 50% lodo/solo. Mas a nível prático, foram comparadas as Concentrações Inferior que Causam um Efeito Observável (CICEO) ou Concentração que Causa Efeito em 20% (CE_{20%}). Assim, podemos dizer que as espécies testadas em suporte líquido se mostraram ser mais sensíveis em relação às espécies testadas em suporte sólido para este lodo têxtil. Ferard *et al.* (1999) avaliaram a toxicidade do resíduo de um incinerador de resíduo sólido municipal e chegaram a conclusão que os biotestes em fase sólida com vegetais foram mais sensíveis do que os em fase líquida. Levando em consideração somente os biotestes em fase líquida (lixiviados), nossos resultados vão ao encontro dos resultados obtidos por estes autores, onde a ordem de sensibilidade encontrada foi algas > bactérias > dáfias. A toxicidade maior nos vegetais encontrada por estes autores está relacionada com a presença somente de metais no resíduo. Já no lodo têxtil temos a presença de metais e compostos orgânicos. Isto explicaria as diferenças na toxicidade encontradas na avaliação do resíduo sólido municipal incinerado e no lodo têxtil. Lambolez *et al.* (1994) avaliaram a toxicidade de vários resíduos de incineração e a ordem de sensibilidade foi: algas > bactérias > dáfias, sendo que alguns resíduos foram potencialmente genotóxicos.

Baseando-se nas Unidades Tóxicas (UT) podemos estabelecer uma escala relativa de sensibilidade entre os diferentes parâmetros estudados na mesma espécie testada ou entre as diferentes espécies de organismos testados. Assim, a hierarquia de sensibilidade observada é a seguinte:

Algas > Bactérias > Biomassa Seca > Biomassa úmida ≈ Germinação > Dáfias ≈ Peixes > Anelídeos

Podemos atribuir a grande sensibilidade das algas ao efeito conjunto dos metais e orgânicos dissolvidos, como pode ser visto na toxicidade das amostras recentes em lodo (Amostra 8), a qual produziu maior efeito para os outros organismos aquáticos em relação aos testes com as Amostras 6 e 7. Dessa forma, podemos sugerir que as algas são bons indicadores para a toxicidade dos lixiviados dos lodos têxteis recentes, visto que elas são sensíveis principalmente aos compostos orgânicos ainda não degradados (*e.g.* fenóis).

Seguindo a ordem hierárquica de sensibilidade, as bactérias aparecem como sendo mais sensíveis frente ao lodo e lixiviados do que as plantas (Biomassa seca, Biomassa úmida e Germinação), Dáfnias, Peixes e Anelídeos. Esta sensibilidade por parte das bactérias pode ser explicada por duas razões. Primeira, as bactérias luminescentes são particularmente sensíveis à salinidade do meio (VASSEUR *et al.*, 1986) e sabe-se que lixiviados de lodos têxteis podem conter sais em altas concentrações (**Tabela 5**). Segunda, o parâmetro analisado no teste com bactérias é ao nível sub-crônico (30 minutos), enquanto que os parâmetros analisados nos outros testes são ao nível crônico (Plantas 16 dias) e ao nível letal (Dáfnias 48hs e Peixes 24 hs). Entretanto, a diferença de sensibilidade das bactérias com relação biomassa seca das plantas é muito pequena. Já os parâmetros biomassa úmida e germinação e letalidade para dáfnias e peixes se mostram numa mesma ordem de magnitude de unidade tóxica (UT).

Milller *et al.* (1985) e Thomas *et al.* (1986), reportaram o decréscimo na ordem de sensibilidade dos organismos frente ao Cd, Cu e Zn: Alga > Dáfnia > Bactéria > Planta > Anelídeos. Já para os herbicidas, a ordem foi a seguinte: Planta > > Alga = Bactéria > Dáfnias > > Anelídeos. Nossos resultados também apontaram uma baixa sensibilidade dos anelídeos.

Saber qual o componente no lodo têxtil que possa estar causando a toxicidade não é um tarefa fácil. Mesmo que se encontrasse metais em concentrações superiores aos limites legais numa mistura complexa, em termos toxicológicos poderia ser discutido a questão da especiação química ou da biodisponibilidade, pois muitos metais podem estar adsorvidos nas moléculas orgânicas sob a forma quelatada ou em estados de oxidação não biodisponíveis,

portanto, não tóxicos. Estudos tem mostrado a grande dependência entre o pH e a especiação química/biodisponibilidade nos fenômenos toxicológicos (FLYHAMMAR, 1997; SAUVÉ *et al.*, 1998).

A determinação total de metais no solo não é suficiente para relatar sobre a toxicidade ou biodisponibilidade, pois as características do meio influenciam na biodisponibilidade dos metais. Por exemplo, um solo com alto quantidade de metal total pode possuir baixa quantidade de metal livre (M^{2+} disponível), ao passo que um solo com menor quantidade de metal total pode possuir quantidade maior de metal livre (M^{2+} disponível). A solubilidade, mobilidade e biodisponibilidade dos metais ligados a partículas do solo aumentam com a diminuição do pH, mudança nas condições redox, estabilização microbiológica e aumento das concentrações de sais.

Por outro lado, fracionar uma amostra e testar as frações, ou seja, combinar frações e biotestes para saber qual o composto químico responsável pela toxicidade não é uma avaliação representativa para o meio ambiente, pois além de pequenas quantidade de material fracionado disponível para realizar os biotestes, junto com a falta de integridade da amostra fracionada, vai interferir nos resultados toxicológicos, pois fatores importantes como a especiação química dos constituintes, biodisponibilidade e interações entre os componentes da mistura são modificadas pelo fracionamento.

Em suma, os biotestes se mostram ferramentas sensíveis e confiáveis para evidenciar a toxicidade de lodo em organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos. A utilização de uma bateria de biotestes é essencial em uma avaliação do potencial tóxico de uma mistura complexa. Isto permite maior segurança na análise do impacto ambiental que possa existir quando do reaproveitamento dos resíduos sólidos industriais não perigosos.

Capítulo IV
CONCLUSÕES

IV – CONCLUSÕES

Este trabalho científico é original quanto à abordagem utilizada para avaliar o impacto ambiental da aplicação do lodo têxtil em solo florestal. A revisão bibliográfica não mostrou nenhum trabalho similar: ou os trabalhos eram baseados em estudos do potencial fertilizante ou avaliavam o comportamento químico dos contaminantes, ou ainda, avaliavam o potencial tóxico dos resíduos sólidos, mas nunca as três abordagens foram utilizadas de forma concomitante. Esta avaliação concomitante demonstrou que a sistemática de classificação dos resíduos sólidos industriais baseada praticamente em parâmetros físico-químicos é insuficiente para se avaliar o impacto ambiental destes resíduos. As normas atualmente vigentes (NBR – 10004) que estão sendo revisadas e consequentemente, as normas futuras, não contemplam o potencial fertilizante, nem o comportamento dos contaminantes no solo e nem os efeitos tóxicos dos contaminantes sobre diferentes organismos pertencentes aos vários grupos tróficos. Em suma, os valores preconizados na norma NBR-10004 não foram baseados em estudos ambientais e sim, de extrapolações de testes toxicológicos clássicos em laboratório com uns poucos tipos de organismos (*e.g.*, o ensaio realizado para avaliar o potencial tóxico preconizado na NBR – 10004 é feito com camundongos, os quais não têm nenhuma representatividade ambiental). Além do mais, estes testes não consideram fenômenos importantes em termos ambientais, tais como a especiação e a biodisponibilidade, fenômenos estes que condicionam a ecotoxicidade das substâncias químicas.

Com relação à dispersão dos contaminantes, os estudos físico-químicos realizados (*i.e.*, adsorção e mobilidade no solo) demonstraram que quando se aplica lodo no solo na proporção 1:2 (v/v), as quantidades de metais lixiviados (independente do pH testado 4, 7 ou 10) nas colunas são inferiores ou similares aos limites estabelecidos para água potável preconizado as pela OMS, EU e CONAMA, bem como muito inferiores ao limite de lançamento de efluentes em corpos de água estabelecido pelo CONAMA 20/86. Com relação à adsorção dos contaminantes pelo solo (em pH natural de 4,4), os resultados das isotermas de adsorção mostraram que este retém grandes quantidades de metais, impedindo uma mobilidade significativa em direção ao lençol freático. Em termos práticos, é mais fácil realizar estudos de

mobilidade em colunas do que efetuar ensaios de adsorção, os quais exigem equipamentos mais sofisticados e estão mais sujeitos a erros experimentais, além de não considerar as interações/reações que os contaminantes estão sujeitos no meio ambiente. Isto é válido não somente para os metais, como também para os processos bióticos de transformação, como por exemplo os fenóis, os quais foram degradados em condições ambientais.

O estudo do potencial fertilizante do lodo têxtil não deixou dúvidas quanto ao seu caráter estimulante da biomassa vegetal. O crescimento da espécie *Eucalyptus spp* cultivada na mistura lodo-solo foi significativamente maior do que quando cultivada em solo puro. O efeito inibitório do lodo no crescimento desta espécie vegetal só apareceu quando a proporção da mistura lodo-solo foi de 1/1 (v/v). Concomitantemente a este efeito estimulante no desenvolvimento de uma espécie muito utilizada em áreas de reflorestamento, verificamos que a microbiologia do solo também foi beneficiada pela aplicação de lodo no solo até a proporção de 25 %. Estes resultados permitem concluir que a aplicação de lodo no solo é benéfica para aumentar o rendimento da biomassa vegetal, bem como aumenta o potencial fertilizante do solo, visto que a microbiologia do solo é estimulada em termos de crescimento. Estes dados permitem recomendar a aplicação de biosólidos em áreas onde o solo é considerado degradado. Em nosso Estado, principalmente na região carbonífera, existem extensas áreas de solo degradado necessitando de remediação. Estudos complementares poderiam estabelecer as quantidades de biosólidos passíveis de serem aplicados nestas áreas.

Contudo, as respostas sobre o impacto ambiental potencial só podem ser obtidas quando da exposição de vários tipos de organismos ao lodo *in natura* ou ao seu lixiviado, pois são os organismos os principais componentes dos ecossistemas naturais. As alterações no funcionamento na quantidade/qualidade dos organismos levam a alterações no funcionamento/estrutura do ecossistema como um todo, daí a importância dos biotestes.

Entre todas as espécies de organismos testados, não houve toxicidade para nenhuma delas quando a proporção de 12 - 25 % de lodo foi misturado ao solo.

Quando se testou o lodo *in natura*, a espécie mais sensível foi a *Eruca sativa* (CICEO = 12 %), entretanto essa espécie vegetal deve ser usada somente como organismo-teste e não como cultura em reflorestamento. Os anelídeos, considerados bons indicadores de qualidade

do solo, não foram afetados quando expostos ao lodo até a proporção de 1:1. No bioteste com lixiviado do lodo, percebeu-se que a idade do lodo (leia-se maturação) é um aspecto que deve ser considerado na interpretação dos resultados. Uma maturação de 3 meses já é suficiente para diminuir a toxicidade deste de forma significativa. Com os lixiviados, a espécie mais sensível com efeito de inibição foi a alga (CICEO = 12 %) para lodos recentes.

Nas condições ambientais, a quantidade de contaminantes nos lixiviados do solo serão muito menores do que as quantidades de contaminantes dos lixiviados obtidos em laboratório feitos de acordo com a NBR-10005, pois vimos que a mobilidade de metais no solo em estudo é relativamente baixa devido à composição deste ser essencialmente argiloso.

Considerando a sensibilidade dos parâmetros analisados (critérios de efeitos), simplicidade do esquema experimental, custo de realização e importância ecológica dos organismos-testes, podemos propor como bateria mínima de biotestes para avaliar a toxicidade dos lodos têxteis recentes:

- um fitoteste em fase sólida com espécie vegetal *Eruca sativa*;
- um fitoteste com as algas *Scenedesmus subspicatus*;
- um teste com o bactéria *Vibrio Fischeri*

Nossos resultados confirmam a importância da combinação da análise química e ecotoxicológica para avaliar misturas complexas, bem como resíduos sólidos industriais. Esta combinação se mostra fundamental em estudos ambientais de reaproveitamento de resíduos.

Como conclusão geral, podemos afirmar que este trabalho contribuiu para demonstrar que: i) existe o potencial de reaproveitar bioresíduo têxtil como fertilizante em solo florestal sem gerar impacto negativo ao meio ambiente; ii) a necessidade/utilidade de se incluir parâmetros ecotoxicológicos (bateria de biotestes) na legislação ambiental para classificação de resíduos sólidos nos estudos envolvendo problemas relacionados à poluição ambiental; iii) estudos de bioacumulação metálica solo/vegetal e de comportamento de compostos orgânicos no solo/lodo podem melhorar o entendimento desta questão, a qual se torna cada dia mais importante no que diz respeito à gestão dos resíduos sólidos não-perigosos.

- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1987. Norma Experimental NBR - 10004 para Classificação de Resíduos Sólidos Industriais. Brasil.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1987. Norma Experimental NBR - 10005 para Lixiviação de Resíduos Sólidos Industriais. Brasil.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1987. Norma Experimental NBR - 10006 para Solubilização de Resíduos Sólidos Industriais. Brasil.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1987. Norma Experimental NBR - 10007 para Amostragem de Resíduos Sólidos Industriais. Brasil.
- AFNOR - Association Française de Normalisation. 1982. Norme Expérimentale X 31-201: Essai d'inhibition de germination de semences par une substance. Paris.
- AFNOR - Association Française de Normalisation. 1986. Norme Expérimentale X 31-202: Essai d'inhibition de la croissance des végétaux par une substance. Paris.
- ALLEONI L.R.F. and SILVEIRA M.L.A. Adsorção de cobre em solos paulistas com diferentes graus de intemperismo. Disponível em: <<http://umweltprogramme.de/meioambiente99/tema01/silveira/text.html>> Acesso em: 04 dez. 2002.
- ANDRADE C.A. e MATTIAZZO M.E., 2000. Nitratos e metais pesados no solo e nas árvores após aplicação de biossólidos (lodo de esgoto) em plantações florestais de *Eucalyptus grandis*. *Science Forestalis*, **58**, 59-72.
- ANDREOLI V. C., FERNANDES F. and DOMASZAK S. C., 1997. Estudo preliminar para definição de critérios para uso agrônomo e de parâmetros para normatização ambiental e sanitária. *Reciclagem Agrícola do Lodo de Esgoto*, 81p. Ed. SANEPAR, Curitiba.
- ANDREOLI V. C., 2001. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição. Ed. PROSAB 2 – Programa de saneamento básico, Rio de Janeiro. ISBN: 85-86552-19-4.
- ANTONIADIS V. and ALLOWAY B.J., 2002. The role dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution*, **117**, 515-521.
- APHA, AWWA, WPCF., 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18ª edição, American Public Health Association, Washington, DC.
- ARAÚJO W.S. and SOBRINHO N.M.B.A., 2000. Influência das propriedades físicas e químicas de solos intemperizados na adsorção de chumbo, cobre e zinco. *Florestas e Ambiente*, **7**, 167-180.
- ASTM - American Society for Testing and Materials. 1994. *Annual Book of ASTM Standards* Vol. 11.04, Pesticides, Resources Recovery, Hazardous Substances and Oil Spill Responses, Waste Managements, and Biological Effects. Philadelphia, PA.
- BADILLA-OHLBAUM R., GINOCCHIO R., RODRIGUEZ P.H., CÉSPEDES A., GONZÁLEZ S., ALLEN H. E. and LAGOS G.E., 2001. Relationship between soil copper content and copper content of selected crop plants in central Chile. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 2749-2757.
- BARRY A. G., CHUDEK J. P., BEST K.E. and MOODY W. P., 1995. Estimating sludge application rates to land based on heavy metal and phosphorus sorption characteristics of soil. *Water. Research*, **29**, 2031-2034.

BEBIN J., 1997. Sludge problem in France: Technical advances, changes in regulations, and French involvement in CEN/TC308. *European Water Pollution Control*, **7**, 18-28.

BEDÉLL J.-P., BRIANT A., DELOLME C. and PERRODIN Y., 2003. Evaluation of the phytotoxicity of contaminated sediments deposited "on soil". I. Impact of water draining from the deposit on the germination of neighbouring plants. *Chemosphere*, **50**, 393-402.

BERNARD C., PERSOONE G., COLIN J. and ANNE D.L., 1996. Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates. *Chemosphere*, **33**, 2303-2320.

BLAISE C., VAN COILLIE R., BERMINGHAM N. and COULOMBE G., 1987. Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papiers. *Revue Internationale des Sciences de l'Eau*, **3**, 9-17.

BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.

BRAILE P. M. e CAVALCANTI J.E.W.A., 1979. *Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais*, CETESB, São Paulo, 764p.

BRAMRYD T., 2000. Effects of liquid and dewatered sewage sludge applied to a Scots pine stand (*Pinus sylvestris* L.) in Central Sweden. *Forest Ecology and Management*, **147**, 197-216.

BULICH A.A., 1979. Use of luminescent bacteria for determining toxicity. In: *Aquatic toxicology*, ASTM STP 667. Eds: H.G. Eaton, P.R. Parish and A.C. Hendricks, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 171-180.

BURTON Jr G.A., ARNOLD W.R., AUSLEY L.W., BLACK J.A., DEGRAEVE G.M., FULK F.A., HELTSHE J.F., PELTIER W.H., PLETTL J.J., and RODGERS Jr. J.H. 1996. Effluent toxicity test variability: Discussion Synopsis. In: *Whole Effluent Toxicity Testing: An Evaluation of Methods and Prediction of Receiving System Impacts*. Eds: D.R. Grothe, K.L. Dickson and D.K. Reed-Judkins. SETAC Press, Pensacola, FL, pp. 131-156.

CALLAHAN M.A. Jr., STEWART A. J., ALARCON C. and McMILLEN S.J., 2002. Effects of earthworm (*Eisenia fetida*) and wheat (*Triticum aestivum*) straw additions on selected properties of petroleum-contaminated soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 1658-1663.

CAMOBRECO V. J., RICHARDS B. K., STEENHUIS T. S., PEVERLY J. H., and McBRIDE M. B. 1996. Movement of heavy metals from past through undisturbed and homogenized soil columns. *Soil Science*, **161**, 740-750.

CARSLON C. E. A. and MORRISON G. M., 1992. Fractionation and toxicity of metals in sewage sludge. *Environmental Technology*, **13**, 751-759.

CEC – Commission of the European Communities, 1986. Council Directive of 12 June on the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Official Journal of the European Communities, No. L 151/6 (86/268/EEC).

CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 1993. Resíduos sólidos industriais. 2.ed. rev. ampl. São Paulo: 233p.

CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2001. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. SP. 245p.

- CHAKRABARTI C AND NASHIKKAR V. J., 1994. Forest tree fertilization with sewage. *Bioresource Technology*, **50**, 185-187.
- CHAUDRY A. M., KNIGHT B. P., BARBOSA-JEFFEERSOM V. L., PRESTONS, PATON G., NICHOLSOM F. A., CHAMBERS B. J. and McGrath S.P., 1999. Determination of acute Zn toxicity in pore water from soils: a long-term field study. *Journal of Environmental Quality*, **12**, 521-535.
- CHRISTENSEN E.R. and SCHERFIG J., 1979. Effects of manganese copper and lead on *Selenastrum capricornutum*, *Chlorella stigmatophora*. *Water Research*, **13**, 79-82.
- CHU C.W. and POON C.S., 1999. The feasibility of planting on stabilized sludge-amended soil. *Environment International*, **25**, 465-477.
- CLÉMENT B., PERSOONE G., COLIN J. and LE DÛ-DELEPIERRE A., 1996. Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates: Determination of leachate toxicity with battery of acute tests. *Chemosphere*, **37**, 845-860.
- CONAMA 20 - Conselho Nacional de Meio Ambiente. 1986. Padrões de qualidade para corpos d'água das diversas classes (água doce) e padrão de lançamento. Brasil.
- COUILLARD D. and GRENIER Y., 1989. Forest management: tree response to wastewater sludge fertilization. *Journal of Environmental Management*, **28**, 235-220.
- CRIPPS, R.W., WINFREE S.K., and REAGAN J.L., 1992. Effects of sewage sludge application method on corn production. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **25**, 1705-1715.
- DAVIES N. A., HODSON M. E. and BLACK S., 2002. Changes in toxicity and bioavailability of lead in contaminated soils to the earthworm *Eisenia fetida* (savigny 1826) after bone meal amendments to the soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 2685-2691.
- DI GIULIO R.T., WASHBURN P.C. and WENNING R.J., 1989. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8**, 1103-1123.
- DIN - Deutsches Institut für Normung. DIN- 38412 Part 30, 1989. Determination the tolerance of *Daphnia* to the toxicity waste water by way of a dilution series. Berlin, Germany.
- DORN P.B., VIPOND T.E., SALANITOR J.P. and WISNIEWSKI H. J., 1998. Assessment of the acute toxicity of crude oils in soils using earthworms, microtox e plants. *Chemosphere*, **37**, 845-860.
- DURING R-A., HOB T. and GATH S. 2002. Depth distribution and bioavailability of pollutants in long-term differently tilled soils. *Soil & Tillage Research*, **66**, 483-195.
- ELLIOTT H.A., LIBERATI M. R. and HUANG C. P., 1986. Competitive adsorption of heavy metals by soils. *Journal of Environmental Quality*, **15**, 214-219.
- ELLIOTT H. A., DEMPSEY B.A., 1991 Agronomic effects of land application of water treatment sludges. *Journal AWWA*, p. 126-131.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA de PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2000. *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Eds: Wagner Bettiol and Otávio A. Camargo, SP, Brasil. 312p.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA de PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1999. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Ed. Silva F. C. Brasília DF. 370p.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. 1991. Directive 91/689/EEC of 12 December on hazardous waste. Official Journal of the European Community. L377, 31 December 1991. Brussels, Belgium.

- FERNANDEZ-SEMPERE J., BARRUESO-MARTÍNEZ M.L., FONT-MONTESIONS R. and SABATER-LILLO M. C., 1997. Characterization of tannery wastes: Comparison of three leachability tests. *Journal of Hazardous Materials*, **54**, 31-45.
- FERRARI B., RADETSKI C.M., VEBER A.-M. and FERARD J-F., 1999. Ecotoxicological assessment of solid waste: A combined liquid-and solid-phase testing approach using a battery of bioassays and biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**,1195-1202.
- FLYHAMMAR P. 1997. Estimation of heavy metal transformations in municipal solid waste. *Science of the Total Environment*, **198**, 123-133.
- GERAKIS P.A , VERESGLOU D.S., and SAKELLARIADIS S.D., 1980. Diferential response of sugar beet *Beta vulgaris* L. cultivars to lead. *Environmental Pollution*. **21**: 77-83.
- GERRITSE R.G., VRIESEMA R., DALENBERG J.W. and ROSS H. P., 1982. Effect of sewage sludge on trace element mobility in soils. *In*: GOVE L., COOKE C .M., NICHOLSON F.A.and BECK A..J., 2001. Movement of water and heavy metals (Zn, Cu, Pb and Ni) through sand and sandy loam amended with biosolids under steady-state hydrological conditions. *Bioresource Technology*, **78**, 171-179.
- GOENG P., WILKE, B.M., STROZZI E. and FLEISCHMANN S., 2001. Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for use in the ecotoxicological assessment of soils. *Chemosphere*, **44**, 491-500.
- GOVE L., COOKE C. M., NICHOLSON F.A. and BECK A.J., 2001. Movement of water and heavy metals (Zn, Cu, Pb and Ni) through sand and sandy loam amended with biosolids under steady-state hydrological conditions. *Bioresource Technology*, **78**, 171-179.
- GUISQUIANI P.L., CONCEZZI L., BUSINELLI M. and MACCHIONI A., 1998. Fate of pig sludge liquid fraction in calcareous soil: agriculture and environmental implications. *In*: ALLOWAY B.J. and ANTONIADIS V., 2002 The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution*, **17**, 515-521.
- HASSAN DAR G., 1995. Effects of cadmium and sewage-sludge on soil microbial biomass and enzyme activities. *Bioresource Technology*, **56**, 141-145
- HENRY C.H., PAGE A. L., BINGHAM F. T. AND MAHLER R.J., 1979. Effect of heavy metals in sludge on agricultural crops. *Journal of Water Pollution Control Federation*, **51**, 2475-2486.
- HENRY C. L., 1991. Nitrogen dynamics of pulp and paper sludge amendment to forest soils. *Water Science and Technology*, **24**, 417-425.
- HINKEL M., HORSTMANN M. and McLACHLAN S.M., 1996. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in sewage sludge: sources and fate following sludge application to land. *The Science of Total Environment*, **185**, 109-123.
- INTERNATIONAL STANDARD FOR ORGANIZATION. 1993 (a). Water Quality: Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). ISO/TC 147/SC5, 107.
- INTERNATIONAL STANDARD FOR ORGANIZATION 1993 (b). Water Quality: Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, *Teleostei*, *Cyprinidae*). Part 1 - Static method. ISO/DIS 7346-1, 1993.

INTERNATIONAL STANDARD FOR ORGANIZATION. 1993 (c). Soil Quality: Determination of the effects of chemicals added to the soil on emergence and growth of higher plants. ISO Committee Draft ISO/DIS 112689-2.

INTERNATIONAL STANDARD FOR ORGANIZATION. 1990. Water Quality: Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*. ISO/DIS 8692.

INTERNATIONAL STANDARD FOR ORGANIZATION. 1994. Water Quality: Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Acute toxicity test. ISO/TC 147/SC5, 1994.

JUVONEN R., MARTIKAINEN E., SCHULTZ E., JOITTI, AHTIAINEN J. And LEHTOKARI M., 2000. A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **47**, 156-166.

KAPANEN A. and ITAVAARA M., 2001. Ecotoxicity test for compost applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **49**, 1-16.

KHALEEL R., REDDY K.R and OVERCASH M.R., 1981. Changes in soil physical properties due to organic waste applications- review. *Journal Environmental Quality*, **10**, 133-141.

KORANTAJER, 1991. A review of the agricultural use sewage sludge: benefits and potential hazards. *Water*, **17**, 189-196.

KRESZE G.-B., 1983. Methods for protein determination. In: *Methods of enzymatic analysis*, Vol. II. Eds: H.U. Bergmeyer, J. Bergmeyer and M. Graßl, Verlag Chemie, Weinheim, GER., pp. 84-100.

KROGMANN U., BOYLES L.S., MARTEL C.J. and McCOMAS A. K., 1997. Biosolids and sludge management – review. *Water Environment Research*, **69**, 534-550.

KROGMANN U., Qu M., BOYLES L.S., and MARTEL C.J., 1998. Biosolids and sludge management – review. *Water Environment Research*, **70**, 557-580.

LAMY I., BOURGEOIS S. and BERMOND A., 1993. Soil cadmium mobility as a consequence of sewage sludge disposal. *Journal of Environmental Quality*, **22**, 731-737.

LAMBOLEZ L., VASSEUR P., FERARD J-F. and GISBERT T., 1994. The environmental risks of industrial waste disposal: An experimental approach including acute and chronic studies. *Ecotoxicology Environmental Safety*, **28**, 317-328.

LAPA N., OLIVEIRA S., CAMACHO S.L. and CIRCEO L.J., 2002a. An ecotox risk assessment of residue materials produced by the plasma pyrolysis/ vitrification (PP/V) process. *Waste Management*, **22**, 335-342.

LAPA N., BARBOSA R., MORAIS J., MENDES B., MÉHU J. and OLIVEIRA S., 2002b. Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes. *Waste Management*, **22**, 583-593.

LEE S. Z., HUANG C.P., ALLEN H. E., SPARKS D. L., SANDERS P.F. and PEIJNENBURG W.J.G.M., 1996. Predicting soil-water partition coefficients for cadmium. *Environmental Science & Technology*, **30**, 3418-3424.

LESZCZYŃSKA M. and OLESZKIEWIC J.A., 1995. Application of the fluoresceine diacetate hydrolysis as an acute toxicity test. *Environmental Technology*, **17**, 79-85.

LEWIS M.A., 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution*, **87**, 319-336.

- LI Z. and SHUMAN L.M., 1997. Mobility of Zn, Cd and Pb in soils affected by poultry litter extract – I. Leaching in soil columns. *Environmental Pollution*, **95**, 219-226.
- LOMBARDI A. T. and GARCIA O. Jr., 2001. An evaluation into the potential of biological processing for the removal of metals from sewage sludges. *Critical Reviews in Microbiology*, **25**, 275-288.
- LOPEZ-MOSQUERA M.E., MOIRÓN C. and CARRAL E., 2000. Use of dairy-industry sludge as fertilizer for grasslands in northwest Spain: heavy metal levels in the soil and plants. *Resources, Conservation and Recycling*, **30**, 95-109.
- LORA E. E. S., 2000. Prevenção e controle da poluição nos setores energético, industrial e de transporte. Brasília: ANEEL. ISBN: 85-87491-04-0.
- MADSEN T., KLINGE C. and GEJLSBJERG B., 2001. Mineralization of organic contaminants in sludge-soil mixtures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 698-705.
- MARCELO T. R., 1998. *Utilização de lodo de esgoto na agricultura - um estudo de caso para as bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí*. Monografia (Pós-Graduação em Ciências – Economia Aplicada. São Paulo. Universidade de São Paulo/ Escola Sup. de agricultura Luiz de Queiroz.
- MARTINEZ M. A., COSTA L. M., FONTES M.P.F. and MATOS A. T., 2000. Mobility of heavy metals as related to soil chemical and mineralogical characteristics of Brazilian soils. *Environmental Pollution*, **111**, 429-435.
- MATTIAZZO E.M. e PIRES M.M.A., 2003. Biosolids conditioning and the availability of Cu and Zn for *Rice*. *Science Agrícola*, **60**, 161-166.
- McBRIDE M.B., RICHARDS B. K., STEENHUIS T. S., PEVERLY J. H. 1997. Mobility and solubility of toxic metals and nutrients in soil fifteen years after sludge application. *Soil Science*, **162**, 487-500.
- McBRIDE M.B. 1994. *Environmental Chemistry of Soils*. Oxford University Press, New York, 260p.
- McCARTHY J.F. and ZACHARA J. M., 1989. Subsurface transport of contaminants. *Environmental Science Technology*, **23**, 496-502.
- MENDES M. R., 1998. *Desenvolvimento de agregados leves a partir de subproduto da mineração de carvão e de lodo de estação de tratamento de efluentes de indústria têxtil*. Monografia (Pos-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais) Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina.
- MILLER W.E., PETERSON S.A., GREENE J.C. and CALLAHAN C.A. 1985. Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous waste sites. *Journal Environmental. Quality*, **14**, 569-594.
- MONTEIRO R.T.R. 2000. Estimativa da atividade microbiana: Método de hidrólise do diacetato de fluoresceína. In *Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo*. Ed. EMBRAPA, 2000 Jaguariuna, SP, 133-137.
- MORENO J.L., GARCIA C. LANDI L. PIETRAMELLARA G. and NANNIPIERI P., 2001. The ecological dose (ED₅₀) for assessing Cd toxicity on ATP content and dehydrogenase and urease activities of soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **33**, 483-489.
- MORENO J.L., HERNÁNDEZ T. PÉRES A. and GARCIA C., 2002. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effects of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. *Applied Soil Ecology*, **21**, 149-158.
- NAMKOONG W. HWANG E.-Y., PARK J.-S. and CHOI J.-Y., 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*, **119**, 23-31.

- NAN Z., LI J., ZHANG J. and CHENG G., 2002. Cadmium and zinc interactions and transfer in soil-crop system under actual field conditions. *The Science of Total Environmental*, **285**, 187-195.
- NEIL J. M., JEFF C. H. and JOHN R. H., 1997. Pollution effects of waste water sludge application to sandy soils with particular reference to the behavior of mercury. *Applied Geochemistry*, **12**, 321-325.
- NEUHOLD J. and RUGGERIO L. 1976. Ecosystem processes and organic contaminants. National Science Foundation, NSF-RA-760008, Washington, D.C., 41 p.
- NYAMANGARA J. and MZEZEWA J., 1999. The effect of-term sewage application on Zn, Cu, Ni, and Pb levels in a clay loam soil under pasture grass in Zimbabwe. *Agriculture Ecosystems & Environmental*, **73**, 199-204.
- PALMER G. McFDZEAN R. KILHAM K., SINCLAIR A. and PATON G.I., 1998. Use of lux-based biosensors for rapid diagnosis of pollutants in arable soils. *Chemosphere*, **36**, 2683-2697.
- PASCHKE M, W. and REDENTE E., 2002. Copper toxicity thresholds for important restoration grass species of the western United States. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 2692-2697.
- PHILLIPS V.R., KIRKPATRICK N. SCOTFORD I.M., WHITE R.P. and BURTON R. G. O., 1997. The use of paper-mill sludges on agricultural land. *Bioresource Technology*, **60**, 73-80.
- PROKOP Z., CUPR P., ZLEVOROVA-ZLAMALIKOVA V., KOMAREK J., DUSEK L. and HOLOUBEK I., 2003. Mobility, bioavailability, and toxic effects of cadmium in soil samples. *Environmental Research*, **91**, 119-126.
- PUN K.C., CHEUNG R.Y.H. and WONG M.H., 1995. Characterization of sewage sludge and toxicity evaluation with microalgae. *Marine Pollution Bulletin*, **31**, 394-401.
- PUNSHON T., ADRIANO D.C. and WEBER J.T., 2002. Restoration of drastically eroded land using coal fly ash and poultry biosolid. *The Science of the Total Environmental*, **296**, 209-225.
- QUEVAUVILLER Ph., 1998. Conclusions of the workshop: standart measurements and testing for solid waste management. *Trends in Analytical Chemistry*, **17**, 314-320.
- RADETSKI C. M., ROSA E. V. C., ROSA S. M. C., SIERRA M. M. S. and SIMIONATTO E. L., 2002. Ozonation of textile wastewater: physicochemical and phytotoxic aspects. *Environmental Technology*, **23**, 537-545.
- RATSCH H.C., 1983. Interlaboratory root elongation testing of toxic substances on selected plant species. EPA-600/S3-83-051. *United States Environmental Protection Agency*, Environmental Research Laboratory, Corvallis, OR.
- REDDING M. R., HAWKER D.W. and BURTON E. D., 2002. Estimating sludge loadings to land based on trace metal sorption in soil: effect of dissolved organo-metallic complexes. *Water Research*, **36**, 1107-1395.
- RENOUX A.Y., TYAGI R. D. and SAMSON R., 2001. Assessment of toxicity reduction after metal removal in bioleached sewage sludge. *Water Research*, **35**, 1415-1424.
- RICHARDS B. K., STEENHUIS T. S., PEVERLY J. H. and McBRIDE M. B., 2000. Effect of sludge-processing mode, soil texture and soil pH on metal mobility in undisturbed soil columns under accelerated loading. *Environmental Pollution*, **109**, 327-346.
- RICHARDS B.K., PEVERLY J.H., STEENHUIS T.S. and McBRIDE M.B., 1998. Metal mobility at an old, heavily loaded sludge application site. *Environmental Pollution*, **99**, 365-377.

- ROSA E. V. C., SIERRA M. M. S., and RADETSKI C. M., 1999. Use of plant tests in the evaluation of textile effluent toxicity. *Ecotoxicology And Environmental Restoration*, **2**, 56 – 61.
- ROSA E. V. C., SIMIONATTO E. L., SIERRA M. M. S., BERTOLI S. L. and RADETSKI M., 2001. Toxicity-based criteria for the evaluation of textile wastewater treatment efficiency. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 839 – 845.
- ROSA E. V. C., VALGAS C., TIEPO, E. N., CORREA A. X. R. and RADETSKI C. M., 2003. Biomass growth, micronucleus induction and antioxidant stress enzyme responses in *Vicia faba* exposed to cadmium in solution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **22**, 645-649.
- ROY M. and COUILLARD D., 1998. Metal leaching following sludge application to a deciduous forest soil. *Water Research*, **32**, 1642-1652.
- SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná, 1999. Reciclagem de Biossólidos: Transformando problemas em soluções. Ed. Andreóli C.V. e Aderlene I. L. Curitiba, PR, 288p.
- SANTOS M.M., MORENO-GARRIDO I. and GONÇALVES F., 2002. An in situ bioassay for estuarine environments using the microalga *phaeodactylum tricornutum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 567-574.
- SARANDI K.P., MAHAKUR D. and MISHRA C. P., 2001. Soil biochemical activity and growth response of rice *Oryza sativa* in flyash amended soil. *Bioresouse Technology*, **76**, 199-205.
- SASTRE I., VICENTE M. A. and LOBO M. C., 1996. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. *Bioresource Technology*, **57**, 19-23.
- SATERBAK A., TOY R. J., WONG D.C.L., MCMAIN J. B. and WILLIAMS M. P., 1999. Ecotoxicological and analytical assessment of effects of bioremediation on hydrocarbon-containing soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**, 1591-1607.
- SATERBAK A., TOY R. J., MCMAIN J. B., WILLIAMS M. P. and DORN P. B., 2000. Ecotoxicological and analytical assessment of effects of bioremediation on hydrocarbon-containing soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 2643-2652.
- SAUVÉ S., DUMESTRE A , McBRIDE M. and HENDERSHOT W., 1998. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**: 1481-1489.
- SCHMIDT. J. P., 1997. Understanding phytotoxicity thresholds for trace elements in land-applied sewage sludge. *Journal Environmental Quality*, **26**, 4-10.
- SCHUTZ E., VAAJASAARI K., JOUTTI A., AHTIAINEN J., 2002. Toxicity of industrial wastes and waste leaching test eluates containing organic compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **52**, 248 –255.
- SELIVANOVASKAYA S.Y., LATYPOVA V.Z., KIYAMOVA S.N. and ALIMOVA F.K., 2001. Use of microbial parameters to asses treatment methods of municipal sewage sludge applied to gray forest soils of Tatarstan. *Agriculture Ecosystems and Environment*, **86**, 145-153.
- SOARES A M.V.M., BAIRD D.J., and CALOW P., 1992. Interclonal variation in the performance of *Daphnia magna* Strauss in chronic bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **11**, 1477-1483.
- SPERLING V. M., 1996. *Princípios de tratamento biológico de águas residuárias*: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos, 2ªed., Belo Horizonte, MG: UFMG, v.1, 243p. ISBN: 85-7041-114-6.

SPONZA D.T., 2003. Application of toxicity test into discharges of the pulp-paper industry in Turkey. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **54**, 74-84.

STEGEMAN J.J., BROUWER M., DIGIULIO R.T., FÖRLIN L., FOWLER B.A., SANDERS B.M. and VAN VELD P.A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. *In: Biomarkers*, Eds: R.J. Huggett., R.A Kimerle, P.M. Mehrle Jr., H.L. Bergman, Lewis Publishers, London, pp. 235-335.

THOMAS J.M., SKALSKI J.R., CLINE J.F., MCSHANE M.C., SIMPSON J.C., MILLER W.E., PETERSON S.A., CAILAHAN C.A. and GREENE J.C., 1986. Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **5**: 487-501.

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 1982. Seed germination/root elongation toxicity test. EG-12. Office of Toxic Substances, Washington, DC.

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 1985a. Toxic substance control act test guidelines: environmental effects testing guidelines, 40 CFR Part 797. Fed. Reg. 50(188), 39389.

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 1985b. Technical support document for water quality-based toxics control. EN-336, Office of Water, Washington, DC.

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 1994. Short-Term Methods For Estimating The Chronic Toxicity Of Effluents And Receiving Water To Freshwater Organisms. 3rd. EPA 600/4-91/002,, Cincinnati, OH, 341 p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency, 1983. Process Design Manual For Land Application Of Municipal Sludge. EPA-625/1-83-016, Cincinnati, OH 45268.

USEPA – United States Environmental Protection Agency, 1995. Guide To The Biosolids Risk Assessments For The Part 503 Rule. EPA/832-B-93-005, Washington, DC.

USEPA – United States Environmental Protection Agency, 1992. Environmental regulations and technology control of pathogens and vector attraction in sewage sludge (including domestic septage) Under 40 CFR part 503.S.I., EPA-625/R-92-013.

USEPA – United States Environmental Protection Agency, 1999. Biosolids generation, use, and disposal in the United States. EPA/832-B-93-005, Washington, DC.

VAN ASSCHE F., CARDINAELS C. and CLIJSTERS H., 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-response relations in *Phaseolus vulgaris* L., treated with zinc and cadmium. *Environmental Pollution*, **52**, 103-115.

VANGRONSVELD J., COLPAER J. V., VAN TICHELEN K. K., 1996. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physico-chemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. *Environmental Pollution*, **94**, 131-140.

VASSEUR P., FERARD J.F., RAST C. and LARBAIGT G., 1984. Luminescent marine bacteria in acute toxicity testing. *In: Ecotoxicological testing for the marine environment*, Vol. 2, Eds: G. Persoone, E. Jaspers and C. Claus, State University Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium, pp. 381-396.

VASSEUR P., BOIS F., FERARD J.F., RAST C., 1986. Influence of physicochemical parameters on the Microtox Test response. *Toxicity Assessment*, **1**: 283-300.

XIAO C., MA. L. Q. and SARIGUMBA T., 1999. Effects of soil on trace metal leachability from papermill ashes and sludge. *Journal of Environmental Quality*, **25**, 321-333.

YONG R.N. and ELZAHABI M. 2001. pH influence on sorption characteristics of heavy metal in the vadose zone. *Engineering Geology*, **60**, 61-68.

WALTER I. and CUEVAS G., 1999. Chemical fractionation of heavy metals in a soil amended with repeated sewage sludge application. *The Science of the Total Environment*, **226**, 113-119.

WANG M.J., 1997. Land application of sewage sludge in China. *The Science of the Total Environment*, **197**, 149-160.

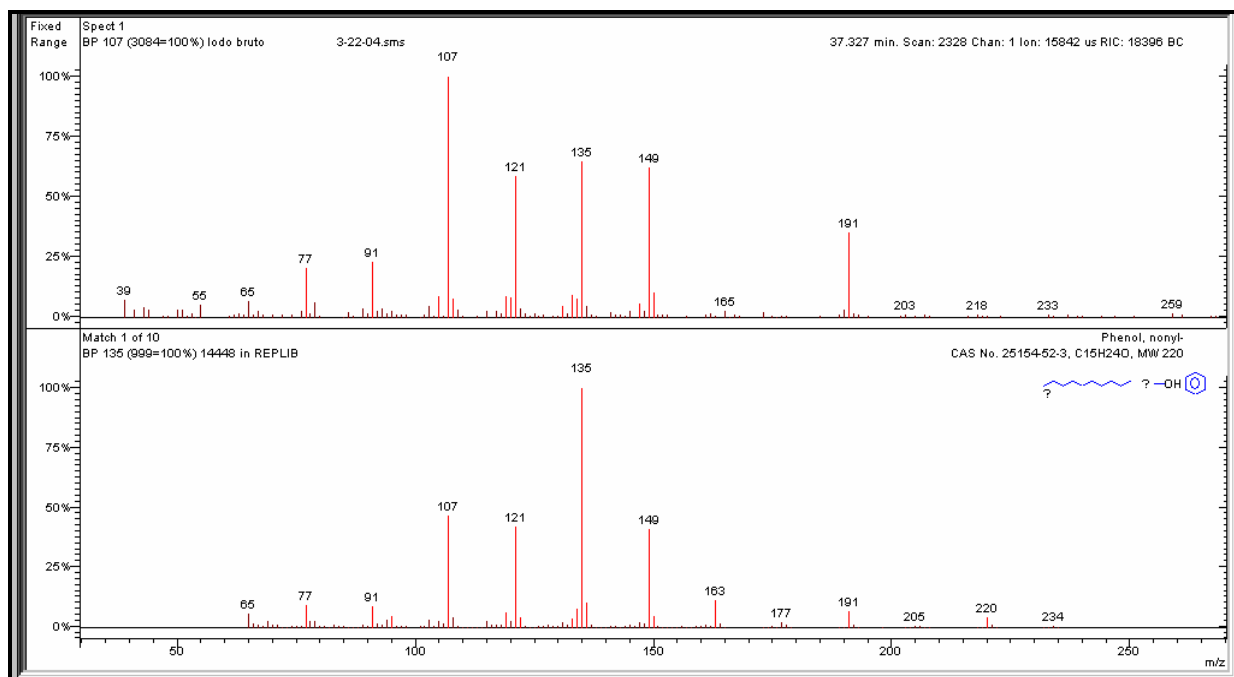
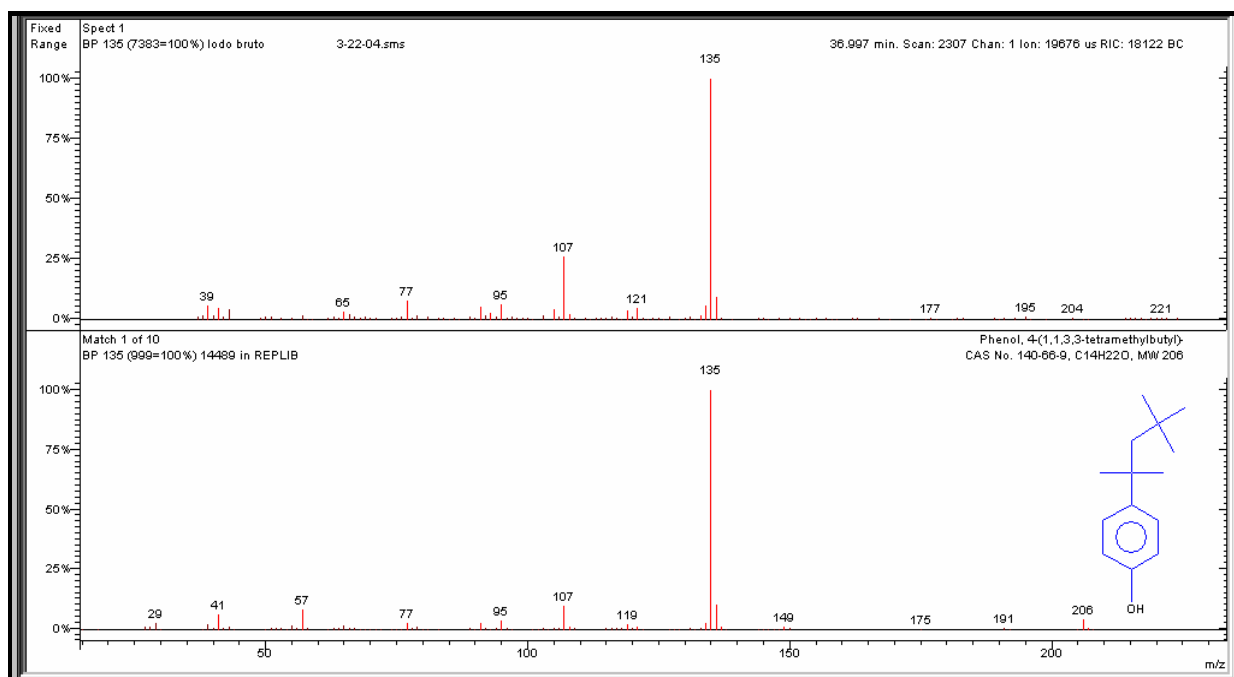
WANG W. and FREEMARK K., 1995. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicology Environmental. Safety*, **30**, 289-301.

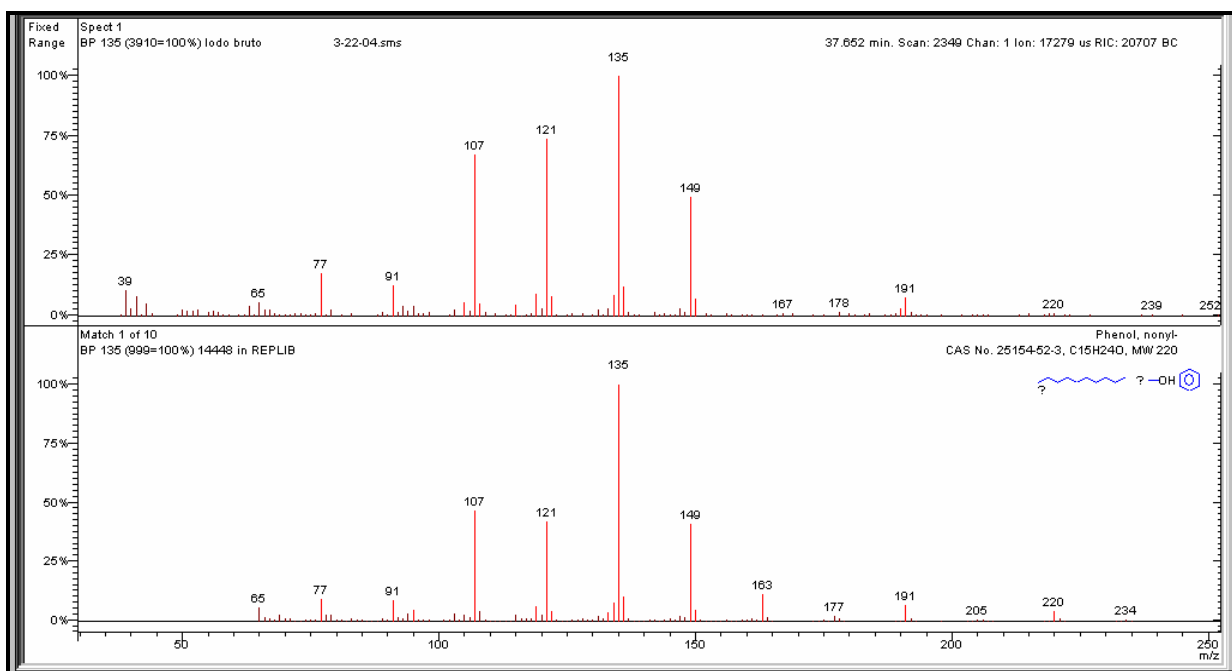
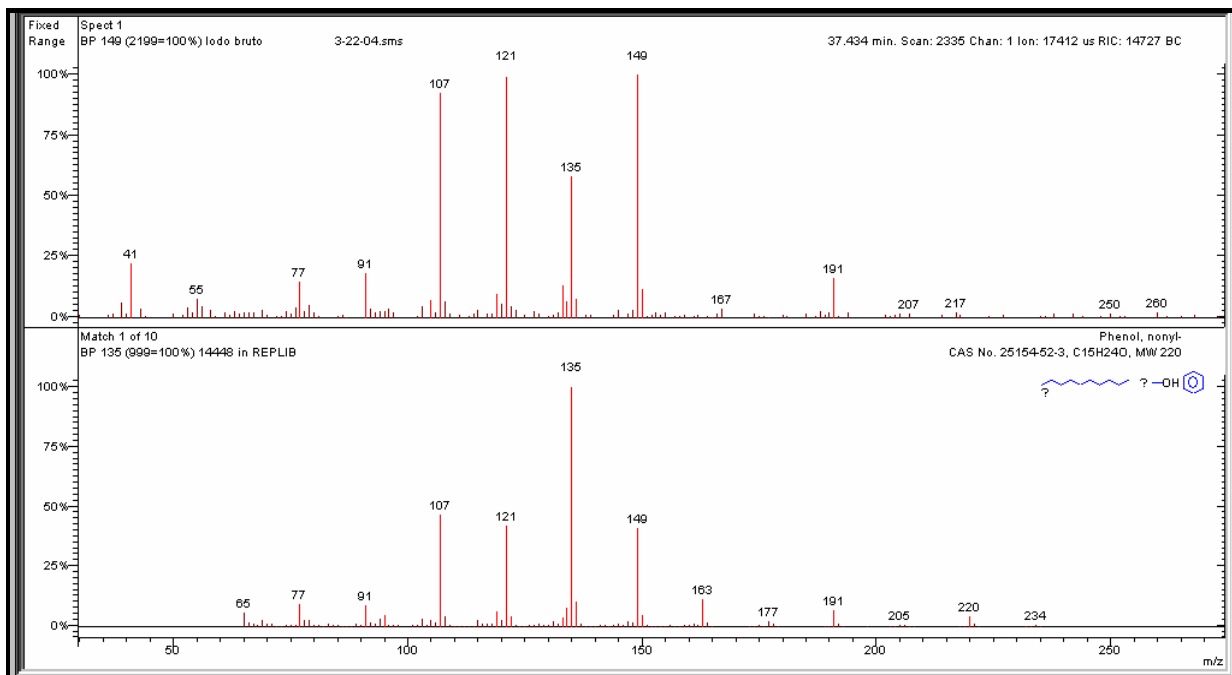
WONG M., 1997. Land application of sewage sludge in China. *The Science of Total Environment*, **197**, 149-160.

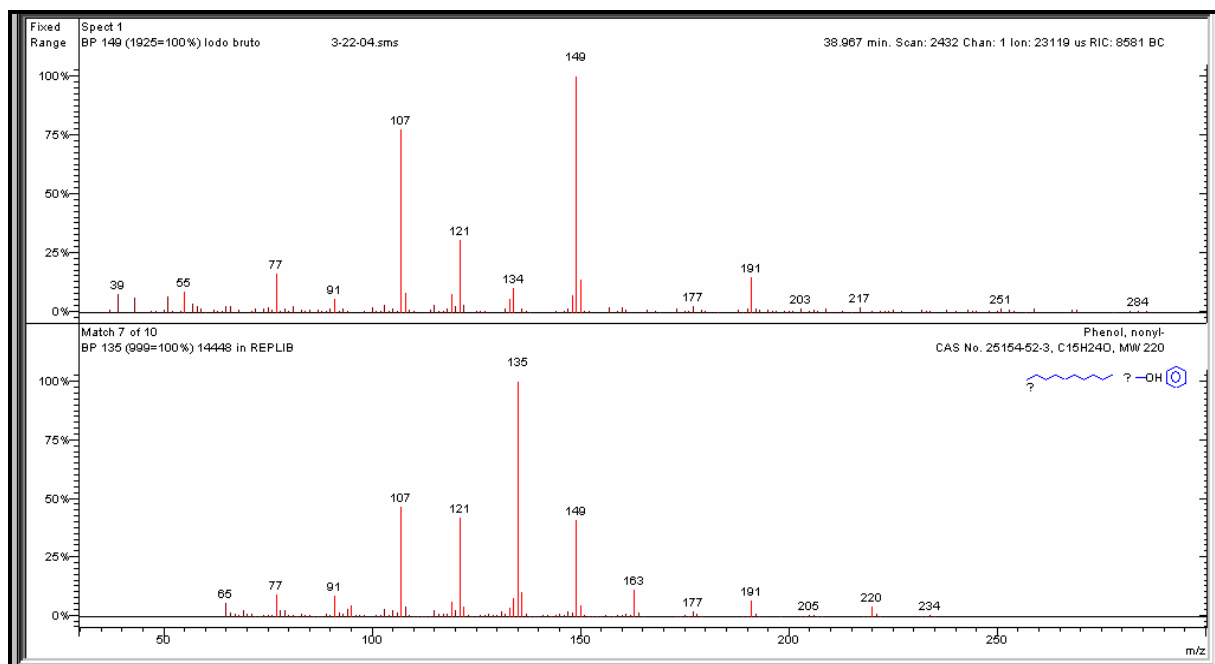
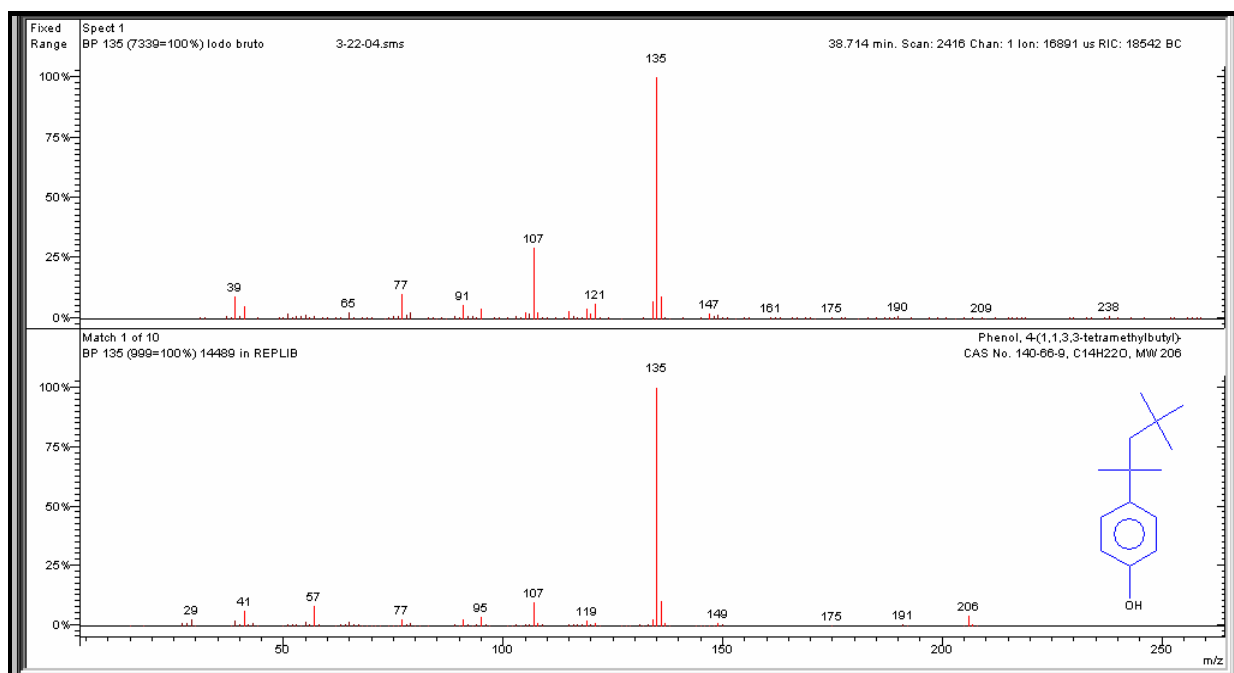
WILLIAMS D.A., 1971. A test for differences between treatment means when several dose leveles are compared with a zero dose control, *Biometrics*, **27**, 103-117.

- ANEXOS

ANEXO 1 – Espectrograma de fragmentação CG-MS dos compostos orgânicos no lodo e lodo-solo







ANEXO 2 – Análises estatística dos parâmetros determinados para a espécie *Eucalyptus* *ssp.*

a) Peso úmido

File: eucaliptu peso umido Transform: LOG BASE 10(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	1.783				
6.25%	1.971	0.874		1.71	k= 1, v=25
12.5%	1.971	0.874		1.79	k= 2, v=25
25%	2.104	1.489		1.82	k= 3, v=25
50%	2.181	1.850	*	1.83	k= 4, v=25

s = 0.373

Note: df used for table values are approximate when v > 20.

b) Biomassa seca

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Controle	1.130				
6.25%	2.943	11.427	*	1.71	k= 1, v=25
12.5%	2.962	11.543	*	1.79	k= 2, v=25
25%	3.218	13.160	*	1.82	k= 3, v=25
50%	3.218	13.160	*	1.83	k= 4, v=25

s = 0.275

Note: df used for table values are approximate when v > 20.

c) Proteínas

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	39.227				
6.25%	37.512	0.372		1.71	k= 1, v=25
12.5%	32.790	1.396		1.79	k= 2, v=25
25%	30.314	1.933	*	1.82	k= 3, v=25
50%	30.314	1.933	*	1.83	k= 4, v=25

s = 7.986

Note: df used for table values are approximate when v > 20.

d) Altura cm

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Solo - controle	63.033				
L-S 6.25-93.75%	151.792	3.875	*	1.71	k= 1, v=25
L-S 12.5%-87.5%	151.792	3.875	*	1.79	k= 2, v=25
L-S 25%-75%	151.792	3.875	*	1.82	k= 3, v=25
L-S 50%-50%	151.792	3.875	*	1.83	k= 4, v=25

s = 39.669

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

ANEXO 3 – Análises estatística dos parâmetros determinados para a espécie “*Cucumis sativus*”

a) Germinação

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	72.200				
3.125%	83.200	0.802		1.78	k= 1, v=12
6.25%	83.200	0.802		1.87	k= 2, v=12
12.5%	83.333	0.812		1.90	k= 3, v=12
25%	86.033	1.008		1.92	k= 4, v=12
50%	86.033	1.008		1.93	k= 5, v=12

s = 16.800

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

a) Biomassa Úmida

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	5.117				
3.125%	7.500	2.827	*	1.78	k= 1, v=12
6.250%	7.500	2.827	*	1.87	k= 2, v=12
12.5%	7.500	2.827	*	1.90	k= 3, v=12
25%	7.500	2.827	*	1.92	k= 4, v=12
50%	7.500	2.827	*	1.93	k= 5, v=12

s = 1.033 ; Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

c) Biomassa Seca

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	1.763				
3.125%	1.823	2.104	*	1.78	k= 1, v=12
6.25%	1.835	2.513	*	1.87	k= 2, v=12
12.5	1.835	2.513	*	1.90	k= 3, v=12
25%	1.835	2.513	*	1.92	k= 4, v=12
50%	1.835	2.513	*	1.93	k= 5, v=12

s = 0.035

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

ANEXO 4 – Análises estatística dos parâmetros determinados para a espécie “*Brassica oleracea*”

a) Germinação

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
CONTROLE	89.667				
3.125%	87.583	0.216		1.78	k= 1, v=12
6.25%	87.583	0.216		1.87	k= 2, v=12
12.5	87.583	0.216		1.90	k= 3, v=12
25%	87.583	0.216		1.92	k= 4, v=12
50%	33.000	5.870	*	1.93	k= 5, v=12

s = 11.823

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

b) Biomassa Úmida

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	1.800				
3.125%	1.717	0.440		1.78	k= 1, v=12
6.25%	1.597	1.075		1.87	k= 2, v=12
12.55	1.533	1.409		1.90	k= 3, v=12
25%	1.133	3.523	*	1.92	k= 4, v=12
50%	0.230	8.297	*	1.93	k= 5, v=12

s = 0.232 ; Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

c) Biomassa Seca

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
CONTROLE	0.667				
3.125%	0.589	0.796		1.78	k= 1, v=12
6.25%	0.589	0.796		1.87	k= 2, v=12
12.5%	0.589	0.796		1.90	k= 3, v=12
25%	0.567	1.024		1.92	k= 4, v=12
50%	0.150	5.290	*	1.93	k= 5, v=12

s = 0.120

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

ANEXO 5 – Análises estatística dos parâmetros determinados para a espécie “*Eruca sativa*”

a) Germinação

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
CONTROLE	97.667				
3.125%	93.000	0.611		1.78	k= 1, v=12
6.25%	93.000	0.611		1.87	k= 2, v=12
12.5%	93.000	0.611		1.90	k= 3, v=12
25%	93.000	0.611		1.92	k= 4, v=12
50%	90.333	0.960		1.93	k= 5, v=12

s = 9.357

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

b) Biomassa Úmida

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
controle	2.017				
3.125	2.017	1.281		1.78	k= 1, v=12
6.25	1.867	0.000		1.87	k= 2, v=12
12.5	1.567	2.562	*	1.90	k= 3, v=12
25	1.100	6.548	*	1.92	k= 4, v=12
50	0.600	10.819	*	1.93	k= 5, v=12

s = 0.143

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

ANEXO 6 – Análises estatística do parâmetro determinado para os Anelídeos

a) Biomassa

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
GRPS 1&2 POOLED	2.907				
12.5%	2.907	0.000		1.80	k= 1, v=11
25%	3.055	0.425		1.89	k= 2, v=11
50%	3.055	0.425		1.92	k= 3, v=11

s = 0.494

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

ANEXO 7 – Análise estatística do teste de toxicidade para algas através da variação da fluorescência

a) Amostra 6

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Controle	296.400				
6.25%	601.667	2.877	*	1.78	k= 1, v=12
12.5%	611.017	2.965	*	1.87	k= 2, v=12
25%	611.017	2.965	*	1.90	k= 3, v=12
50%	611.017	2.965	*	1.92	k= 4, v=12
100%	611.017	2.965	*	1.93	k= 5, v=12

s = 129.947

Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

b) Amostra 7

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Controle	472.858				
6.25%	472.858	6.498	*	1.78	k= 1, v=12
12.5%	472.858	6.498	*	1.87	k= 2, v=12
25%	472.858	6.498	*	1.90	k= 3, v=12
50%	331.867	1.306		1.92	k= 4, v=12
100%	283.333	0.481		1.93	k= 5, v=12

s = 33.258 Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.

c) amostra 8

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
C	308.867				
6.25%	308.867	0.561		1.78	k= 1, v=12
12.5%	183.000	5.099	*	1.87	k= 2, v=12
25%	144.967	6.809	*	1.90	k= 3, v=12
50%	63.433	10.474	*	1.92	k= 4, v=12
100%	50.833	11.041	*	1.93	k= 5, v=12

s = 27.240 Note: df used for table values are approximate when $v > 20$.